

# **Die Serumvaspinkonzentration in Abhängigkeit von trainingsinduziertem oxidativen Stress**

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

Dr. med.

an der Medizinischen Fakultät

der Universität Leipzig

eingereicht von: Katharina Kirsch  
geb. am: 31.03.1982 in Leipzig  
angefertigt an der: Medizinische Klinik III  
Klinik und Poliklinik für Endokrinologie und Nephrologie  
Universität Leipzig  
Liebigstrasse 20  
04103 Leipzig  
Direktor: Prof. Dr. Michael Stumvoll  
  
Betreuer: Prof. Dr. Matthias Blüher  
PD Dr. Peter Kovacs  
Dr. med. Dr. rer. biol. hum. Andreas Oberbach MPH

Beschluss über die Verleihung des Doktorgrades vom: 23.08.2011

## **Danksagung**

Mein Dank für die wertvolle Unterstützung gilt vor allem meinem Betreuer und sehr guten Freund Dr. Dr. Andreas Oberbach, der mir mit seinen Erfahrungen und seiner Geduld immer tatkräftig zur Seite stand.

Weiterhin möchte ich mich bei meinem Doktorvater Prof. Dr. Matthias Blüher, meinem Betreuer PD Dr. Peter Kovacs sowie dem gesamten Wissenschaftsteam, insbesondere Dr. Stefanie Lehmann und Dr. Nadine Schlichting, die mir wertvolle Tipps und Hinweis erteilten, bedanken.

Ich danke meinen Eltern für die jederzeit und reichlich gegebene Unterstützung für meine bisherige Bildungslaufbahn. Meinem Vater verdanke ich immerwährenden Ansporn durch immer noch präsenste Ausstrahlung seiner vorbildlichen Persönlichkeit als Arzt, Mensch und Vater. Meiner Mutter danke ich besonders tatkräftige Unterstützung in den letzten Jahren. Besonders schätz ich die Unterstützung meiner Familienmitglieder und Freunde. Meinem geliebten vierbeinigen Freund (Pferd) verdanke ich dringend notwendige Entspannungszeiten zwischen den Phasen härtester Arbeit.

## **Bibliographische Beschreibung**

Katharina Kirsch, Assistenzärztin Innere Medizin/Kardiologie

### **Die Serumvaspinkonzentration in Abhängigkeit von trainingsinduziertem oxidativen Stress**

Universität Leipzig, Publikationsdissertation, September 2010

23 Seiten, 79 Literaturangaben, 5 Anlagen.

#### **Referat**

Insbesondere dem viszeralen Fettgewebe, mit seiner Quelle für die Zytokinexpression, werden pathogene Eigenschaften in der Entwicklung des Typ 2 Diabetes mellitus zugesprochen. Diese Adipozytokine modulieren die Insulinsensitivität in verschiedenen Zielgeweben. Das Adipozytokin Vaspin wurde erstmalig 2005 beschrieben und wird vorrangig im viszeralen Fettgewebe exprimiert. Im Serum wurde es als Serin-Protease-Inhibitor identifiziert. Untersuchungen zeigen einen protektiven Einfluss von Vaspin auf den Glukosestoffwechsel und belegen einen möglichen Zusammenhang mit der Pathogenese des Typ 2 Diabetes mellitus. Kurzzeitige körperliche Aktivität vermindert die Serumvaspinkonzentration in Abhängigkeit von der Belastungsintensität und des Fitnesslevels. Verschiedene Studien verweisen auf eine Assoziation des Typ 2 Diabetes mellitus mit einem erhöhten Radikalestoffwechsel sowohl im Serum, im Fett- als auch im Muskelgewebe. Offen bleibt die Frage, ob die Erhöhung der Vaspinkonzentration auf einen verbesserten Glukosestoffwechsel zurückzuführen ist oder unter dem Einfluss des Diabetes induzierten Radikalestoffwechsels steht. Ein gesteigerter Radikalestoffwechsel in der Muskulatur wird insbesondere unter intensiver körperlicher Belastung beobachtet und wurde als Modell zur Untersuchung des Zusammenhangs zwischen Vaspin und dem oxidativen Stress herangezogen. In einer randomisierten prospektiven Studie zeigen Probanden nach einem 4-wöchigen Trainingsprogramm mit Vitamin C -und E- Zusatz eine signifikante Reduktion des Radikalestoffwechsels im Serum und in der Skelettmuskulatur bei gleichzeitiger Erhöhung der Serumvaspinkonzentration. Hohe intraindividuelle Schwankungen sowie belastungsabhängige Änderungen des Stoffwechsels beeinflussen die Serumvaspinkonzentration nachhaltig. Um den Einfluss der Änderung der Insulinsensitivität oder des ROS genauer aufzudecken, sollten weitere Anstrengungen in der Identifikation der Reaktionspartner unternommen werden.

# Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	Seite
<b>1. Hintergrund und Ziel der Arbeit</b>	<b>1</b>
<b>2. Studiendesign und Methoden</b>	<b>3</b>
<b>3. Ergebnisse und Diskussion</b>	<b>5</b>
3.1 Die Wirkung vom Adipozytokin Vaspin als Insulinsensitizer	5
3.2 Oxidativer Stress und Serumkonzentrationen von Vaspin	10
3.3 Schlussfolgerungen	14
<b>4. Literaturverzeichnis</b>	<b>15</b>
<b>5. Publikation</b>	<b>23</b>
Serum vaspin concentrations are decreased after exercise induced oxidative stress	
<b>6. Zusammenfassung der Arbeit</b>	

## Anhang

Kraftkreis / Kraftausdauerprogramm

Erklärung über die eigenständige Abfassung der Arbeit

Danksagung

Lebenslauf

Publikationen

## Abkürzungsverzeichnis

ANOVA	analysis of variance
BMI	Body Mass Index ( $\text{kg/m}^2$ )
BZ	Blutzucker
DNA	Desoxyribonucleic acid
CRP	C-Reaktives Protein
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
HDL-Cholesterin	High Density Lipoprotein-Cholesterin
IE	Internationale Einheiten
IGT	Impaired Glucose Tolerance
IL-6	Interleukin-6
IL-10	Interleukin-10
M.	Musculus
MCP1	Monozyten Chemotaktisches Protein 1
mRNA	messenger Ribonucleic acid
NGT	Normal Glucose Tolerance
OAD	Orales Antidiabetikum
o.g.	oben genannt
OGTT	Oraler Glukose Toleranz Test
OLETF	Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty
PCO-Syndrom	Polyzystisches Ovar-Syndrom
PCR	Polymerase chain reaction
PGC1 $\beta$	Peroxisome proliferator activator receptor $\gamma$ coactivator 1- $\beta$
ROS	Reactive Oxygen Species
sign.	signifikant
SIRS	Systemic inflammatory response syndrome
ssCRP	super sensitive C-Reaktives Protein
Suppl.	Supplementierung

TBARS	Thiobarbituric Acid Reaktive Substances
TNF- $\alpha$	Tumornekrosefaktor- $\alpha$
T2DM	Typ 2 Diabetes mellitus
Vaspin	visceral adipose tissue-derived serpin
Vit.	Vitamin
VO <sub>2max</sub>	maximale Sauerstoffaufnahme
WHR	Waist to Hip Ratio (Quotient Hüfte-Taille Umfang)

## 1. Hintergrund und Ziel der Arbeit

Eine der entscheidenden Faktoren in der Entwicklung der Adipositas ist die Zunahme des Körperfettgehaltes. Insbesondere dem viszeralen Fettgewebe werden pathogene Eigenschaften in der Entwicklung des T2DM zugesprochen (30). Verschiedene Autoren verdeutlichen die Rolle des Fettgewebes als eine Source für die Zytokinexpression im Organismus (1; 7; 51). Durch Adipozyten exprimierte Zytokine bezeichnet man als Adipozytokine, obgleich auch diese Proteine in anderen Geweben, wie der Muskulatur (46; 15; 68; 44; 45, 41), exprimiert werden können.

Adipozytokine wie Leptin (14; 70; 56; 76), MCP-1 (53), TNF- $\alpha$  (25; 63; 9), Alkylierung-stimulierendes Protein (71; 10), IL-6 (6; 16), Adiponektin (74; 37; 73), und Resistin (58; 48; 5; 22; 40; 50; 78) modulieren die Insulinsensitivität in Abhängigkeit des Stimulus und der nachfolgenden intrazellulären Signalkaskaden (25; 37; 56; 76; 9).

Adiponektin werden Effekte als Insulinsensitizer durch Bindung an seinen Rezeptor und der damit folgenden Aktivierungen von Signalkaskaden zugeschrieben (62; 75). Diese Tatsache wird in der Downregulation von Adiponektin und Adiponektinrezeptoren bei Adipositas-gekoppelter Insulinresistenz weiter unterstrichen (62; 75; 49).

Im Gegensatz zu Adiponektin wirken hohe Konzentrationen von MCP 1 bei der Ausdifferenzierung von Adipozyten sowie in der Pathogenese der Hyperinsulinämie und Adipositas. Im Mausmodell zeigte Sartipy et al. (2002) eine Überexpression von MCP 1 bei adipösen Mäusen. Diese Überexpression stand im engen Zusammenhang mit dem Ausprägungsgrad einer Insulinresistenz (53).

Körperfett-assoziierte proinflammatorische Zytokine, vasoaktive Peptide, Gerinnungs- und Komplementfaktoren sowie Visfatin, Vaspin und Retinol-Bindungs-Protein weisen eine parakrine Hormonregulation auf (2). Hida et al. (2005) verwies auf die Antiproteaseaktivität von Vaspin (visceral adipose tissue-derived serpin) als mögliche physiologische Eigenschaft (24). Bis zum heutigen Tag konnten jedoch die Reaktionspartner nicht eindeutig identifiziert werden. Vaspin gehört zur Gruppe der Serpine, welche die Enzymaktivität von Serinproteasen inhibieren. Zehn Prozent der humanen Plasmaproteine sind Serpinhomologe, so z.B. Antitrypsin, Antithrombin und Ovalbumin. Tan et al. (2008) beschrieb eine positive Assoziation zwischen Vaspin-Genexpression im menschlichen Fettgewebe mit der Vaspin-Serumkonzentration.

Dieser Zusammenhang zeigte sich sowohl bezogen auf Adipositas als auch auf T2DM (60).

Einige Untersuchungen belegen den Einfluss einer singulären Überexpression von Adipozytokinen im Serum auf den Glukosestoffwechsel. Dennoch kann aus der erhöhten Konzentration des Adipozytokins im Serum keine generelle Funktion im Hinblick auf den Glukosemetabolismus des Organismus und die viszerale Fettverteilung abgeleitet werden. Wenn man die Rolle der Adipozytokine im Glukosestoffwechsel hinterfragt, wird deutlich, dass viele Regelmechanismen im Organismus durch die erhöhte Expression des Adipozytokins beeinflusst werden. Aber auch der pathologische Glukose- und Lipidstoffwechsel kann unabhängig vom Grad der Adipositas eine Stimulation von Adipozytokinen bewirken (31). Die Komplexität biochemischer Prozesse im T2DM wird bei Betrachtung des Adipozytokins Vaspin besonders deutlich.

2005 entdeckte die Forschergruppe um Hida et al. dieses Adipozytokin (24). Vaspin ist ein Serin-Protease-Inhibitor dessen Reaktionspartner im Serum unbekannt sind (24). Das Adipozytokin ist zwischen 45 und 48 kDa groß und wird vorrangig im viszeralen Fettgewebe exprimiert (30; 65). Weiterführende Studien zeigen einen protektiven Einfluß von Vaspin auf die Glukosehomöostase in Analogie zum Adiponektin (30; 36; 65). Unbekannt ist, welche pathophysiologischen Signalkaskaden bzw. welche Rolle Vaspin im Glukosestoffwechsel einnimmt. Einige Autoren belegen einen Zusammenhang zwischen der Serumvaspinkonzentration und der Änderung der Insulinsensitivität (30; 77). Youn et al. 2008 untersuchte den Einfluss einer vierwöchigen Bewegungstherapie auf gesteigerte Serumvaspinkonzentrationen (77). Hierbei zeigte sich ein belastungsabhängiger Anstieg des Serumvaspins im Zusammenhang mit einem reduzierten BMI und einer gesteigerten Insulinsensitivität. Durch sportliche Aktivität konnte Vaspin nach 4 Wochen signifikant erhöht werden (77). Ob jedoch der durch Steigerung der Belastungsintensität angeregte Radikalestoffwechsel ein stärkerer Einflussfaktor auf die Serumvaspinkonzentration darstellt oder die Verbesserung des Glukosestoffwechsels ursächlich für die Regulation von Vaspin ist, bleibt ungeklärt. Verschiedene Studien verweisen auf eine Assoziation des T2DM mit einem erhöhten Radikalestoffwechsel (12; 3) sowohl im Serum als auch im Fett- und Muskelgewebe. Die Ergebnisse aus den Belastungsstudien und die



Kenntniss über die pathophysiologische Rolle des Radikalestoffwechsels in der Manifestation des T2DM führen uns zu folgenden Fragestellungen zur Aufklärung der Rolle des Serumvaspinks bei der Entstehung des T2DM.

Gibt es einen Zusammenhang zwischen gesteigerter Serumvaspinkonzentration und erhöhter Insulinsensitivität nach einer Bewegungstherapie? Ist die Serumvaspinkonzentration abhängig von der Art der körperlichen Belastung? Welchen Einfluss hat der Radikalestoffwechsel auf die Serumvaspinkonzentration?

## **2. Studiendesign und Methoden**

### *Darstellung der Kurzzeitintervention*

Zur Darstellung der Serumvaspinkonzentration unter physischen submaximalen Ermüdungsbedingungen wurde sowohl ein 60-minütiges Kraftausdauerprogramm als auch ein Spiroergometrietest bis zur maximalen Erschöpfung durchlaufen (n=80).

Um den Einfluss der Leistungsfähigkeit und des BMI auf die belastungsabhängigen Vaspinkonzentrationen zu prüfen, untersuchten wir 4 Gruppen. Der ersten Gruppe wurden Hochleistungssportler (n=20) mit mindestens 10 Jahren sportlicher Anamnese und einer im Spiroergometrietest bestimmten maximalen Sauerstoffaufnahme über 45 ml/min/kgKG zugeordnet. Die Probanden der Gruppe 2 (Freizeitsportgruppe, n=20) betreiben seit mindestens 3 Jahren durchschnittlich 2 mal wöchentlich Sport. Gruppe 3 erfüllten die Kriterien BMI < 23 ohne sportliche Historie. Die Probanden der Gruppe 4 haben einem BMI > 30 ohne sportliche Aktivitäten im Alltag.

Die *Belastungsintensität* im Kraftausdauerprogramm betrug 80 Prozent der individuellen Maximalkraft, die vor Studienbeginn für die jeweilige Übung ermittelt wurde. Insgesamt absolvierten die Probanden vier Runden mit zehn Übungen verschiedener Muskelgruppen und einer Belastungsdauer von 30 Sekunden sowie einer Regenerationsdauer von 60 Sekunden (Kraftkreis siehe Anhang).

Die Messung des Serumvaspinks erfolgte vor Belastung, direkt im Anschluss der Intervention sowie nach 24 und 48 Stunden Regenerationszeit.

Der *Spiroergometrietest* erfolgte als Stufentestverfahren auf dem Fahrradergometer bis zur maximalen Erschöpfung. Der Belastungstest begann bei 70 Watt für 3 Minuten

und wurde dann alle 30 Sekunden um 25 Watt gesteigert. Die subjektive Leistungsempfindung wurde mittels Borg-Skala ermittelt und war bei Erreichen der maximalen Leistungsfähigkeit das Primärkriterium zum Abbruch der Testprozedur. Klinisch indizierte Abbruchkriterien für das Testprotokoll sind bei Trappe und Löllgen (2000) beschrieben (61), und wurden entsprechend angewandt. Die Messung des Serumvaspins erfolgte vor der Belastung, direkt im Anschluss der Intervention sowie nach 30, 60 und 90 Minuten Regenerationszeit.

#### *Darstellung der Langzeit-placebokontrollierten Intervention*

Um den Einfluss des Radikalestoffwechsels auf die Serumvaspinkonzentration zu ermitteln, wurden 24 Probanden randomisiert in zwei Therapiearme aufgeteilt. Die erste Gruppe erhielt ein Placebopräparat in gleicher Medikationsfolge wie die Vitamin-Gruppe. Der zweite Therapiearm wurde mit 10 mg Vit. C sowie 400 IU Vit. E pro Tag behandelt. Die Belastungsintensität und der Belastungsumfang waren in beiden Interventionsgruppen vergleichbar. Ein vierwöchiges Kraftausdauerprogramm mit 4-5 Trainingseinheiten pro Woche (siehe Anhang) und submaximalen Belastungsintensitäten (80-90 % der maximalen Kraftwerte) wurde realisiert. Am 1. Tag der jeweiligen Therapiewoche, nach zweitägigen Ruhepausen und 10 Stunden Nahrungskarenz, erfolgten die Blutentnahmen zur Bestimmung der Vaspinkonzentration. Die Messung des *Radikalestoffwechsels* erfolgte mittels TBARS, einem etablierter Marker für oxidativen Stress, der die Lipidperoxidation widerspiegelt. Die Bestimmung der Vaspinkonzentration im Serum erfolgte mittels Standard-ELISA.

#### *Weiterführende Untersuchungen aus den Serum- und Gewebeproben*

Zu Beginn und nach einem vierwöchigen Training wurden Muskelbiopsien des M. vastus lateralis standardisiert entnommen. Direkt nach Probenentnahme erfolgte die Aufbewahrung in flüssigem Stickstoff sowie eine Lagerung für nachfolgende Analysen bei -80°C. Die totale RNA-Isolation erfolgte durch TRIzol (*Life Technologies*, California, USA). 1µg RNA wurde durch eine Reverse Transkriptase in cDNA umgeschrieben (*Life Technologies*). Die Humane PGC-1β und Katalase Genexpression wurde mittels quantitativer Real-Time PCR (RT-PCR) unter Nutzung eines TaqMan Assay (*Applied*

*Biosystems*, California, USA) in einem ABI PRISM 7000 Sequenzdetektor (*Applied Biosystems*) realisiert. Die Proben wurden im ABI 7000 Sequenzdetektor bei 95°C für 10 Minuten denaturiert, gefolgt von 40 PCR-Zyklen (jeder Zyklus 15 Sek, 95°C, gefolgt von 1 Minute 60°C und 1 Minute 72°C).

Für jeden RT-PCR Ansatz wurden 2µl zur Analyse der Genexpression nach den Vorgaben der Manufaktur (*Stratagene*, California, USA) verwendet.

Folgende Primer kamen zur Anwendung:

PGC-1β: 5'TTGAGGAGTGCGAGGTGCTG (Sense) und

5'ATCTGGGCCAGCAGAAGTGC (Antisense)

Katalase: 5'TCCGGGATCTTTTAAAGCCCATTG (Sense) und

5'TCGAGCACGGTAGGACAGTTCAC (Antisense)

Zur Analyse der Serumvaspin- sowie der Serumadiponektinkonzentration kam ein ELISA-Kit der Firma *AdipogenGen* (Korea) zur Anwendung. Die Messung erfolgte unter Einhaltung des Protokolls der Manufaktur.

Die statistische Auswertung erfolgte mittels SPSS, Version 15.0 und GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Software, California, USA). Der interindividuelle Vergleich zwischen den Interventions-Gruppen wurde mit einem unabhängigen t-Test nach Student berechnet. Der Vergleich mehrerer Messzeitpunkte im Verlauf der Untersuchung erfolgte mittels ANOVA und zwischen zwei Messzeitpunkten der gleichen Population mit gepaartem t-Test. Die Korrelation und Regressionsanalysen erfolgten auf der Basis von Spearman-Korrelations-Koeffizient mit einem Signifikanzniveau von 0,05%.

Alle Teilnehmer der Kurz- und Langzeitintervention gaben vor Belastung ihr schriftliches Einverständnis. Die Studien sind geprüft und genehmigt durch das Ethikkomitee der Universität Leipzig, Medizinische Fakultät.

### **3. Ergebnisse und Diskussion**

#### **3.1 Die Wirkung vom Adipozytokin Vaspin im Glukosestoffwechsel**

In der Pathophysiologie des T2DM stand in der vergangenen Dekade das viszerale Fettgewebe und dessen Fähigkeit zur Expression von Gewebshormonen im Fokus wissenschaftlicher Betrachtungen (30; 49). Vaspin wurde ursprünglich von Hida et al. (2005) im Fettgewebe von Ratten mit manifestem T2DM identifiziert (24). Die Expression von Vaspin im humanen Organismus wurde vorrangig im viszeralen

Fettgewebe (30) nachgewiesen. Bei schlanken Ratten (24) und schlanken Probanden mit einem BMI < 25 (30) liegt die Detektion von Vaspin im Fettgewebe unter der Nachweisgrenze. Die Ergebnisse lassen vermuten, dass die Expression von Vaspin an den Metabolismus bzw. an den Grad der Ausbildung des metabolischen Syndroms gekoppelt ist. Korrelationsanalysen beschreiben einen Zusammenhang zwischen der Vaspinexpression im viszeralen Fett, dem BMI, der relativen Körperfettmasse und der 2 h OGTT Plasma Glukose (30). Diese Erkenntnisse führen zur Annahme, dass Vaspin ein regulatorisches Protein im Glukosestoffwechsel ist (24; 30; 51; 77; 41).

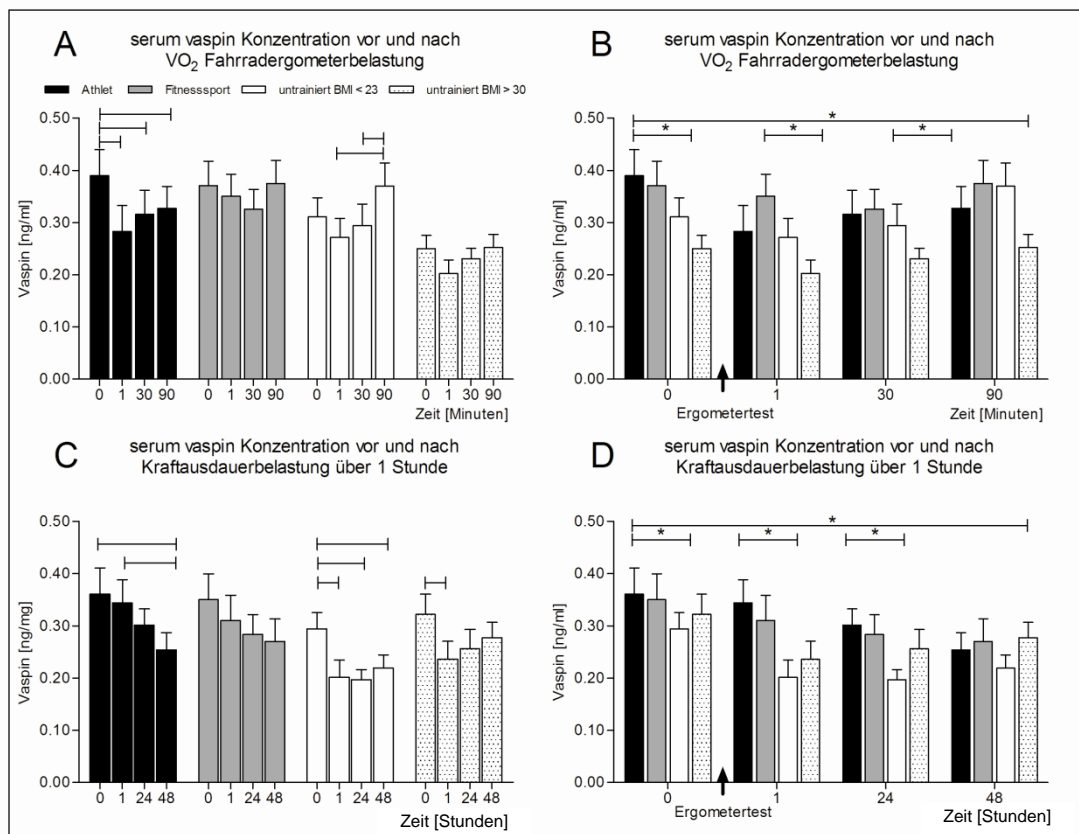
Untersuchungen im Tiermodell ermöglichen es, auf experimenteller Ebene die Funktion von Vaspin zu erforschen. Problematisch ist jedoch, dass die Reaktionspartner des Serin-Protease-Inhibitor's (Vaspin) nicht bekannt sind (24; 30; 41). Hida et al. (2005) verdeutlichten den Zusammenhang des Vaspins am Modell der „Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty“ (OLETF) Ratten, mit zunehmender Adipositas, steigendem Körpergewicht und erhöhten Insulin-Plasmakonzentrationen. Weiterhin konnte belegt werden, dass ein hoher Körperfettanteil sowie eine gestörte Glukosehomöostase direkt mit hohen Vaspinkonzentrationen im zirkulierenden Plasma assoziiert sind. Mit zunehmender Insulinresistenz bzw. mit zunehmender Verschlechterung der diabetischen Stoffwechsellage und erniedrigtem Körpergewicht sinkt die Gewebeexpression von Vaspin. Diese Erkenntnisse lassen die Schlussfolgerung zu, dass Insulinresistenz zur Absenkung der Serumvaspinkonzentration führt, obwohl eine gestörte Glukosehomöostase zu hohen Serumvaspinkonzentrationen führt. Eine mehrtägige Therapie mit Insulin oder Pioglitazone erhöht im Tiermodell (OLETF) die Expression und Serumkonzentration von Vaspin. Diese Befunde weisen auf einen Insulin-Sensitizing Effekt des Vaspins durch Regulation im viszeralen Fettgewebe hin (24).

Die klinischen Befunde im Humanmodell belegen den Zusammenhang zwischen der Vaspinexpression im Fettgewebe und der Konzentration im Serum im Hinblick auf die Pathophysiologie des T2DM. Im viszeralen Fettgewebe von PCO-Patienten wurden erhöhte Konzentrationen von Vaspin auf mRNA-Expressionsebene aufgedeckt (60). Das PCO-Syndrom ist mit Adipositas und Insulinresistenz assoziiert und belegt somit einen

Zusammenhang zwischen Insulinresistenz und hohen Serumvaspinkonzentrationen (69; 34; 64). Eine 6-monatige pharmakologische Intervention mit Metformin senkt die Vaspinkonzentration im Serum und steht im Zusammenhang mit einer Verbesserung der Insulinsensitivität und mit einem Rückgang der Insulinresistenz (60). Erhöhte Serumvaspinkonzentrationen korrelieren mit hohen  $\Delta$ WHR, hohen  $\Delta$ Glukose,  $\Delta$ HOMA-IR und  $\Delta$ HOMA- $\beta$ . Eine multiple Regressionsanalyse zeigte jedoch nur für die Änderung der Glukosekonzentration eine Vorhersagbarkeit der Serumkonzentrationen von Vaspin (60). Eigene Untersuchungen können den Zusammenhang zwischen einer Änderung der Vaspinkonzentration und der Änderung der Insulinsensitivität nicht bestätigen (41). In eigenen Untersuchungen steht der BMI in keinem Zusammenhang mit der Serumvaspinkonzentration. Youn et al. (2008) wie auch Hida et al. (2005) fanden eine Abhängigkeit der Serumvaspinkonzentration vom Ausprägungsgrad des BMI. Klöting et al. (2006) beschreibt die Detektionsgrenze des Vaspins im viszeralen Fettgewebe oberhalb eines BMI von 25. Im direkten Vergleich mit eigenen Resultaten lässt sich vermuten, dass Vaspin entweder einem schnellen Protein-Turnover unterliegt, oder dass andere Gewebe bzw. Stoffwechselbedingungen zur Vaspinhomöostase beitragen.

Eine mögliche Erklärung liefern die Forschungsergebnisse von Seeger et al. (2008) und Youn et al. (2008). Die Untersuchungen belegen eine geschlechtsspezifische Expression des Vaspins im Serum. Frauen zeigten sign. höhere Vaspinkonzentrationen als männliche Probanden. In der eigenen Studie wurden ausschließlich Männer im Alter von 20 bis 40 Jahren untersucht (41). Weiterführende geschlechtsspezifische Untersuchungen sind notwendig, um diesen Effekt nachhaltig aufzuklären.

**Grafik 1**



**Grafik 1.** In einem Spiroergometrietest (A, B) sowie in einem Kraftausdauererfahren (C, D) wurden in vier Gruppen (Hochleistungssportler = schwarze Balken, Freizeitsportler = graue Balken, Untrainierte BMI < 23 = weiße Balken, Untrainierte BMI > 30 = gepunktete Balken), unter Belastungsbedingungen und in der Regenerationsphase die Serumvaspinkonzentration bestimmt. Die Grafiken A und C stellt den gruppenspezifischen Zeitverlauf der jeweiligen Belastung dar. Sowohl Grafik B zum Zeitpunkt 0 (prä), 1 (1 Min. nach Belastung), 30 (30 Min. nach Belastung) und 90 (90 Min. nach Belastung) als auch Grafik D verdeutlichen zum Zeitpunkt 0 (prä), 1 (1 h nach Belastung), 24 (24 h nach Belastung), und 48 (48 h nach Belastung) einen Gruppenvergleich. Die Gruppenunterschiede wurden mit ANOVA und Post hoc Betrachtung nach Bonferroniadjustierung auf ein sign. Niveau von < 0,05% bestimmt. Zeichen: \* zeigt einen unabhängigen t-Test zwischen den Gruppen.

Die Glukosehomöostase unterliegt kurzzeitigen und langzeitigen Anpassungsmechanismen. Seeger et al. (2008) zeigten erstmals, dass nach intensivierter Insulinintervention die Vaspinkonzentration statistisch bedeutsam sinkt (55). Eigene Untersuchungen zur Überprüfung der Interaktion zwischen dem Glukosestoffwechsel und der Vaspinkonzentration als mögliche Einflussvariable auf die Glukosehomöostase, belegen auch einen kurzzeitigen Regelmechanismus des Vaspins unter Belastungsbedingungen. 80 Probanden wurden einem 60-minütigem Krafttraining mit dem Ziel der Reduktion des Muskelglykogens unterzogen. Sowohl ermüdende maximale Ausbelastungszustände (Grafik 1A, 1B) sowie Kraftausdauerbelastungen über 60 Minuten (Grafik 1C, 1D, Figure 1A) führen

Abhängigkeit des Trainingszustandes und der maximalen Leistungsfähigkeit zu einer Senkung der Serumvaspinkonzentration. Diese Verringerung der Vaspinkonzentration nach einer Spiroergometriebelastung stellt sich bereits nach 90 Minuten auf das Ausgangsniveau ein (Grafik 1 A / B). Im Vergleich hierzu führen muskelerschöpfende Belastungen bis zu 48 h nach körperlicher Aktivität zu einer Reduktion des Serumvaspins (Grafik 1 C / D). Eine Erklärung für die anhaltende Minderung des Vaspins könnte in der bis zu 72 Stunden nach erschöpfender Belastung gesteigerten Insulinsensitivität liegen (66). Da Vasin als Serin-Protease-Inhibitor (24) fungiert, ist auch eine Freisetzung der Reaktionspartner unter Belastungsbedingungen ins Serum denkbar. Nähere Kenntnisse würden durch die Identifikation der Reaktionspartner ermöglicht. Weiterhin kann ein erhöhter Abbau des Vaspins als Ursache in Frage kommen. Untersuchungen im Urin sowohl vor als auch direkt im Anschluss an eine Spiroergometrie- und Kraftausdauerbelastung konnten kein Vasin detektieren. Die renale Elimination ist anscheinend kein Grund für die verminderte Konzentration des Adipozytokins im Serum. Ein kausaler Zusammenhang ist jedoch bis zum heutigen Zeitpunkt in der Literatur nicht belegt. Bemerkenswert in der eigenen Untersuchung ist, dass die intraindividuellen Schwankungen der Vaspinkonzentration postprandial erheblich die Ausgangskonzentration vor Untersuchungen beeinflussen. So hat die Gruppe mit einem BMI > 30 zum Zeitpunkt der Spiroergometrie signifikant niedrigere Vaspinkonzentrationen als die Gruppe der Athleten (Grafik 1, B). Die gleichen Probanden zeigen zum Zeitpunkt vor dem Kraftausdauer-test keinen statistisch relevanten Unterschied der Serumvaspinkonzentration (Grafik 1, D). Diese Erkenntnisse legen den Schluss nahe, dass die Vaspinkonzentration vor allem bei einem jungen Probandenkollektiv höheren akuten Schwankungsraten unterliegen kann als bei Patienten mit Metabolischem Syndrom oder T2DM. Vergleichbare Ergebnisse aus der Literatur sind nicht bekannt.

Youn et al. (2008) überprüften die Regulation des Serumvaspins durch eine Steigerung der körperlichen Leistungsfähigkeit mittels eines 4-wöchigen Trainings von NGT-, IGT- und T2DM Patienten. Die Autoren beschreiben einen Anstieg der Serumvaspinkonzentration im Verlauf der Therapieintervention sowie eine Verbesserung der Glukosehomöostase im Sinne einer Reduktion des WHR, BMI,

relative Fettmasse, sowie ssCRP und einer Erhöhung des antiinflammatorischen Zytokins IL-10. Schließlich deckte eine multivariate Regressionsanalyse auf, dass ein reduzierter BMI, eine verbesserte Insulinsensitivität, und ein erhöhter Fitnesslevel ( $VO_{2max}$ ) Einflussparameter für eine erhöhte Vaspinkonzentration nach körperlicher Aktivität darstellt (77).

Zusammenfassend zeigt sich, dass Vaspin vorrangig im viszeralen Fettgewebe exprimiert wird und die Detektionsgrenze im Fettgewebe auf mRNA-Ebene bei einem BMI > 25 liegt (30). Frauen weisen höhere Serumvaspinkonzentrationen gegenüber dem männlichen Geschlecht auf. Der BMI wird als positive Prädiktorvariable für die Serumvaspinkonzentration beschrieben (24, 30, 55, 77). Diese Ergebnisse konnten durch die eigenen Untersuchungen nicht bestätigt werden (41). Hohe Vaspinkonzentrationen werden mit einem gestörten Glukosestoffwechsel assoziiert (24, 30). Nach pharmakologischer Intervention mit Insulin oder OAD und somit einer nachfolgenden Verbesserung des Glukosestoffwechsels wird eine statistisch signifikante Verminderung der Vaspinkonzentration im Serum beobachtet (24, 55, 60). Eigene Untersuchungen belegen eine Abhängigkeit der Serumvaspinkonzentration nach körperlicher Kurzzeitbelastung und erschöpfender muskulärer Aktivität. Vaspin sinkt nach einer Stresstestbelastung auf dem Fahrradergometer in Abhängigkeit der körperlichen Leistungsfähigkeit und des BMI. Nach erschöpfender muskulärer Arbeit sinkt die Serumvaspinkonzentration und bleibt in Abhängigkeit des Trainingszustandes und des BMI in der Regenerationsphase bis 48h nach Belastung vermindert. Durch ein 4-wöchiges Trainingsprogramm wird die Serumvaspinkonzentration signifikant erhöht (77, 41).

### **3.2 Oxidativer Stress und Serumkonzentrationen von Vaspin**

Der körperlichen Betätigung wird eine Vielzahl von gesundheitsfördernden Effekten zugeschrieben (67). Besonders Bewegung verbessert den Glukosemetabolismus bei bestehender Insulinresistenz (28). Diese günstigen Effekte von Sport auf den Glukosestoffwechsel schließen mehrere Mechanismen, wie beispielsweise eine erhöhte Expression von Glukosetransportern und einer Translokation von Glukosetransportern zu den Plasmamembranen, unabhängig von Insulin, ein (79).



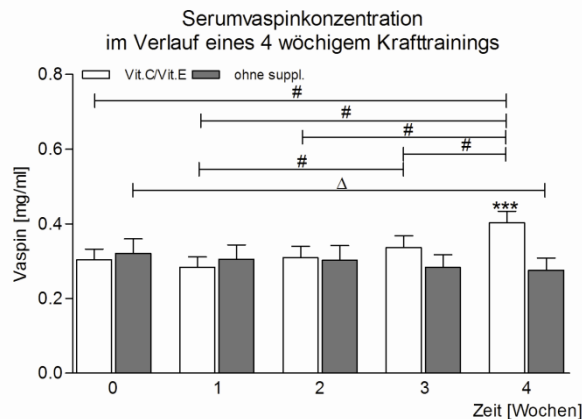
Sowohl Sport als auch eine Reduktion an Körpergewicht stehen in einem positiven Zusammenhang mit der Aktivierung des mitochondrialen Metabolismus. Ein reduzierter mitochondrialer Metabolismus ist funktionell mit T2DM verbunden. Die Mitochondrien stellen eine Hauptquelle für die ROS und dessen Metabolismus dar (29; 21; 32; 33; 38).

Unter intensiver körperlicher Belastung bilden die Zellen der Skelettmuskulatur freie Radikale, diese modifizieren die Zellen auf den Ebenen der DNA (43), Proteine (43) und Lipiden (49). Die Bedeutung dieser Stoffwechselmechanismen ist bis zum heutigen Tag nicht hinreichend geklärt. Es wird vermutet, dass ROS gesundheitsfördernde Effekte vermitteln kann (39; 19; 54; 8; 20).

In den letzten Dekaden wurde verstärkt der Einfluss des Radikalestoffwechsels auf die Glukosehomöostase untersucht (23; 54). Sowohl das Metabolische Syndrom als auch die Pathophysiologie des T2DM ist eng mit einer Änderung des Radikalestoffwechsels verbunden (3; 12; 23; 54). Leistungsphysiologische Untersuchungen belegen die Steuerbarkeit des Radikalestoffwechsels in der Skelettmuskulatur und im Serum durch körperliches Training und Supplementierung von Vit. C und E (52). Die Forschergruppe um Ristow et al. (2009) zeigte den Einfluss eines 4-wöchigen Trainings auf die Insulinsensitivität durch den trainingsbedingten oxidativen Stress. Die körperliche Belastung induziert metabolische und epigenetische Anpassungsmechanismen. Die Folge sind eine verbesserte antioxidative Kapazität der Skelettmuskulatur sowie eine Sensitivierung insulinabhängiger Signalwege, insbesondere im Therapiearm ohne Antioxidantien. Die Supplementation von Antioxidantien (Vitamin C 1000 mg/d und Vitamin E 400 IE/d) mindert, bezogen auf die Glukosehomöostase, die gesundheitsfördernden Effekte von Sport (52).

Das Adipozytokin Vaspin unterliegt einer belastungsabhängigen Regulation durch körperliches Training (77, 41). Eigene Untersuchungen belegen die Wirkung des oxidativen Stresses auf die Serumexpression des Vaspins (41).

**Grafik 2**



**Grafik 2.** Grafik 2 zeigt die Langzeitanpassung des Serumvaspins an ein vierwöchiges Kraftausdauer-Trainingsprogramm. Der Vergleich einer Vitaminsuppl. (n = 12, weiße Balken, Vit. C und Vit. E) mit einer Placebogruppe (Keine Supplementation, n = 12, graue Balken) erfolgte mittels ANOVA und wurden Post hoc nach Bonferroniadjustierung auf ein sign. Niveau von < 0,05% bestimmt.

Zeichen: # bedeutet einen sign. Unterschied innerhalb der Vitaminsuppl.-Gruppe (abhängiger t-Test).

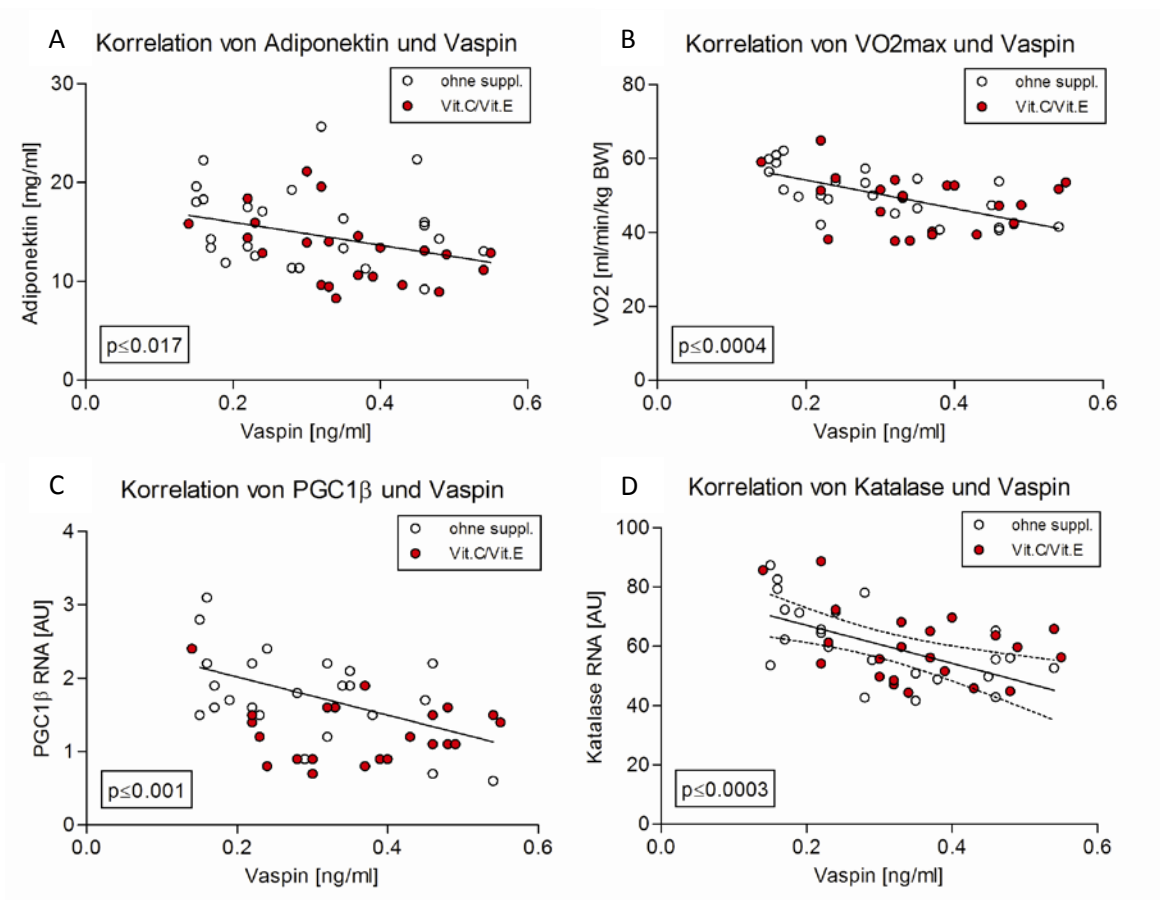
Δ bedeutet einen signifikanten Unterschied innerhalb der Placebogruppe (abhängiger t-Test).

• zeigt einen unabhängigen t-Test zwischen den Gruppen.

Unter Einbeziehung eines Krafttrainingsmodells über vier Wochen und zusätzlicher Supplementierung von Vit. C –und E wurde die Kinetik der Serumvaspinkonzentration, im Hinblick auf eine langfristige Anpassung, sowie der Zusammenhang zwischen Radikalestoffwechsel und der Vaspinkonzentration im Serum überprüft (Grafik 2). Nach vierwöchiger Intervention konnte die Placebokontrollgruppe eine sign. erhöhte Konzentration von TBARS, einem Marker für oxidativen Stress auf der Ebene der Lipidperoxidation (72), nachweisen (41). Im Verlauf der Therapie wurde wöchentlich im Serum die Vaspinkonzentration bestimmt. Es zeigt sich, dass mit erhöhtem Radikalestoffwechsel bei gleicher Belastung die Serumvaspinkonzentration erniedrigt ist. Dies belegt einen Zusammenhang zwischen Vaspin und der erhöhten TBARS Konzentration im Serum. Im Gegensatz hierzu zeigen Probanden unter Vitamin C und E Supplementierung einen sign. Anstieg der Vaspinkonzentration nach 4 Wochen (Grafik 2).

In einer multiplen Pearson-Korrelationsanalyse zeigte sich ein negativer Zusammenhang zwischen der Vaspin- und Adiponektinkonzentration im Serum (Grafik 3A) sowie der maximalen Sauerstoffaufnahme (Grafik 3B). In weiterführenden Untersuchungen zeigt sich ein negativer Zusammenhang zwischen der PGC1β-

Expression (Grafik 3C) und der Katalase-Expression (Grafik 3D) auf mRNA Ebene mit der Serumvaspinkonzentration.



**Grafik 3.** Die Grafiken A-D zeigen den Zusammenhang zwischen Serumvaspinkonzentrationen mit Adiponektin (A), PGC1 $\beta$  (B), Katalase (C) und VO<sub>2</sub>max (D) in der Gruppe mit einer Vitaminsuppl. (weiße Punkte) und in der Placebokontrollgruppe (graue Punkte).

Unter gegebenen Belastungsbedingungen können sowohl die freien Radikale als auch eine Freisetzung der Reaktionspartner von Vaspin für die differentielle Regulation verantwortlich sein. Eine weitere Erklärung bezieht sich auf die verminderte Resyntheseleistung des Fettgewebes in Abhängigkeit der Belastungsintensität. Auch die gesteigerte Insulinsensitivität nach körperlicher Aktivität ist als Ursache des Absenkens der Vaspinkonzentration denkbar. Die Autoren um Ristow et al. (2009) konnten zeigen, dass bei erhöhtem Radikalestoffwechsel eine verbesserte Insulinsensitivität vorliegt (52). Zusammenfassend belegen die Untersuchungen, dass ein Anstieg des oxidativen Stresses nach körperlicher Kurz- und Langzeitbelastung die

Serumvaspinkonzentration vermindert. Ein Einfluss der Insulinsensitivität auf den, durch oxidativen Stress, vermittelten Effekt auf Vaspin konnte nicht nachgewiesen werden (41).

### **3.3 Schlussfolgerungen**

Viele Studien belegen den Zusammenhang zwischen Vaspin und dem T2DM. Eine Änderung der Serumvaspinkonzentration geht mit einer Änderung der Insulinsensitivität einher. Vaspin wird vorrangig aus dem viszeralen Fettgewebe sezerniert und ist beim weiblichen Geschlecht in höheren Konzentrationen nachweisbar. Eigene Ergebnisse zeigen, im Gegensatz zur Literatur, eine Unabhängigkeit der Serumvaspinkonzentration gegenüber dem BMI. Des Weiteren wird die Serumkonzentration des Adipozytokins durch kurzzeitige und langzeitige Belastung nachhaltig reduziert. Durch eine Herabsetzung des Radikalestoffwechsels mittels einer 4-wöchigen Vitamin C- und E-Supplementation zeigt sich ein signifikanter Anstieg der Serumvaspinkonzentration nach 4 Wochen körperlicher Belastung, während ein renaler Abbauweg aufgrund eines fehlenden Nachweises im Urin unwahrscheinlich scheint. Im Gegensatz dazu sinkt die Serumvaspinkonzentration nach 4 Wochen ohne Vitaminsupplementation. Dieser Effekt lässt vermuten, dass ROS die trainingsinduzierte Reduktion der Serumvaspinkonzentration vermitteln könnte. Der bei Youn et al. (2008) festgestellte Anstieg der Serumvaspinkonzentration nach einem vierwöchigen Training ist wahrscheinlich auf eine eigenständige Vitamineinnahme durch die Probanden zurückzuführen. Der Radikalestoffwechsel beeinflusst die Vaspinhomöostase auf metabolischem Weg. Hohe intraindividuelle Schwankungen sowie belastungsabhängige Änderungen des Stoffwechsels beeinflussen die Serumvaspinkonzentration nachhaltig. Um den Einfluss der Änderung der Insulinsensitivität oder des ROS genauer aufzudecken, sollten weitere Anstrengungen in der Identifikation der Reaktionspartner unternommen werden.

#### 4. Literaturverzeichnis

1. Ahima RS. (2006): Adipose tissue as an endocrine organ. *Obesity* (Silver Spring). 4 Suppl 5, 242S-249S.
2. Ahima RS, Osei SY. (2008): Adipokines in obesity. *Front Horm Res.* 36, 182-197.
3. Ahmed FN, Naqvi FN, Shafiq F. (2006): Lipid peroxidation and serum antioxidant enzymes in patients with type 2 diabetes mellitus. *Ann N Y Acad Sci.* 1084, 481-489.
4. Bacha F, Saad R, Gungor N, Arslanian SA. (2004): Adiponectin in youth: relationship to visceral adiposity, insulin sensitivity, and beta-cell function. *Diabetes Care.* 27, 547-552.
5. Banerjee RR, Rangwala SM, Shapiro JS, Rich AS, Rhoades B, Qi Y, Wang J, Rajala MW, Poci A, Scherer PE, Stepan CM, Ahima RS, Obici S, Rossetti L, Lazar MA. (2004): Regulation of fasted blood glucose by resistin. *Science.* 303 (5661), 1195-1198.
6. Bastard JP, Jardel C, Bruckert E, Blondy P, Capeau J, Laville M, Vidal H, Hainique B. (2000): Elevated levels of interleukin 6 are reduced in serum and subcutaneous adipose tissue of obese women after weight loss. *J Clin Endocrinol Metab.* 85(9), 3338-3342.
7. Bastard JP, Maachi M, Lagathu C, Kim MJ, Caron M, Vidal H, Capeau J, Feve B. (2006): Recent advances in the relationship between obesity, inflammation, and insulin resistance. *Eur Cytokine Netw.* 17 (1), 4-12.
8. Birringer M, Kuhlow D, Pfluger PT, Landes N, Schulz TJ, Glaubitz M, Florian S, Pfeiffer A, Schuelke M, Brigelius-Flohé R, Ristow M. (2007): Improved glucose metabolism in mice lacking alpha-tocopherol transfer protein. *Eur J Nutr.* 46 (7), 397-405.
9. Bruun C, Heding PE, ~~Ørskov~~ SG, ~~Froböse~~ H, Rhodes CJ, Mandrup -Poulsen T, Billestrup N. (2009): Suppressor of cytokine signalling-3 inhibits tumor necrosis factor-alpha induced apoptosis and signalling in beta cells. *Mol Cell Endocrinol.* 311 (1-2), 32-38.

10. Cianflone K, Xia Z, Chen LY. (2003): Critical review of acylation-stimulating protein physiology in humans and rodents. *Biochim. Biophys. Acta.* 1609 (2), 127-143.
11. Cnop M, Vidal J, Hull RL, Utzschneider KM, Carr DB, Schraw T, Scherer PE, Boyko EJ, Fujimoto WY, Kahn SE. (2007): Progressive loss of  $\beta$ -cell function leads to worsening glucose tolerance in first-degree relatives of subjects with type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 30, 677-682.
12. Dhalla NS, Temsah RM, Netticadan T. (2000): Role of oxidative stress in cardiovascular diseases. *J Hypertens.* 18(6), 655-673.
13. Duncan BB, Schmidt MI, Pankow JS, Bang H, Couper D, Ballantyne CM, Hoogeveen RC, Heiss G. (2004): Adiponectin and the development of type 2 diabetes: the atherosclerosis risk in communities study. *Diabetes.* 53, 2473-2478.
14. Ebihara K, Ogawa Y, Masuzaki H, Shintani M, Miyanaga F, Aizawa-Abe M, Hayashi T, Hosoda K, Inoue G, Yoshimasa Y, Gavrilova O, Reitman ML, Nakao K. (2001): Transgenic overexpression of leptin rescues insulin resistance and diabetes in a mouse model of lipotrophic diabetes. *Diabetes.* 50, 1440-1448.
15. Febbraio MA, Pedersen BK. (2002): Muscle-derived interleukin-6: mechanisms for activation and possible biological roles. *FASEB J.* 16, 1335-1347.
16. Fernandez-Real JM, Vayreda M, Richart C, Gutierrez C, Broch M, Vendrell J, Ricart W. (2001): Circulating interleukin 6 levels, blood pressure, and insulin sensitivity in apparently healthy men and women. 86(3), 1154-1159.
17. Ferrannini E, Nannipieri M, Williams K, Gonzales C, Haffner SM, Stern MP. (2004); Mode of onset of type 2 diabetes from normal or impaired glucose tolerance. *Diabetes.* 53, 160-165.
18. Festa A, Williams K, D'Agostino R Jr, Wagenknecht LE, Haffner SM. (2006): The natural course of  $\beta$ -cell function in nondiabetic and diabetic individuals: the insulin resistance atherosclerosis study. *Diabetes.* 55, 1114-1120.
19. Goldstein BJ, Mahadev K, Wu X. (2005): Redox paradox: insulin action is facilitated by insulin-stimulated reactive oxygen species with multiple potential signaling targets. *Diabetes.* 54 (2), 311-321.
20. Gomez-Cabrera MC, Domenech E, Romagnoli M, Arduini A, Borrás C, Pallardo FV, Sastre J, Viña J. (2008): Oral administration of vitamin C decreases muscle

- mitochondrial biogenesis and hampers training-induced adaptations in endurance performance. *Am J Clin Nutr.* 87 (1), 142-149.
21. Gruber J, Schaffer S, Halliwell B. (2008): The mitochondrial free radical theory of ageing-where do we stand?. *Front Biosci.* 13, 6554-6579.
  22. Heilbronn LK, Rood J, Janderoova L, Albu JB, Kelley DE, Ravussin E, Smith SR. (2004): Relationship between serum resistin concentrations and insulin resistance in nonobese, obese, and obese diabetic subjects. *J Clin Endocrinol Metab.* 89 (4), 1844-1848.
  23. Henriksen EJ, Saengsirisuwan V (2003): Exercise training and antioxidants: relief from oxidative stress and insulin resistance. *Exerc Sport Sci Rev.* 31 (2), 79-84.
  24. Hida K, Wada J, Eguchi J, Zhang H, Baba M, Seida A, Hashimoto I, Okada T, Yasuhara A, Nakatsuka A, Shikata K, Hourai S, Futami J, Watanabe E, Matsuki Y, Hiramatsu R, Akagi S, Makino H, Kanwar YS. (2005): Visceral adipose tissue-derived serine protease inhibitor: A unique insulin-sensitizing adipocytokine in obesity. *PNAS.* 102 (30), 10610-10615.
  25. Hotamisligil GS, Peraldi P, Budavari A, Ellis R, White MF, Spiegelman BM. (1996): IRS-1-mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF- $\alpha$ - and obesity-induced insulin resistance. *Science.* 271, 665-668.
  26. Hotta K, Funahashi T, Bodkin NL, Ortmeier HK, Arita Y, Hansen BC, Matsuzawa Y (2001): Circulating concentrations of the adipocyte protein adiponectin are decreased in parallel with reduced insulin sensitivity during the progression to type 2 diabetes in rhesus monkeys. *Diabetes.* 50, 1126-1133.
  27. Hu E, Liang P, Spiegelmann BM (1996): AdipoQ is a novel adipose-specific gene dysregulated in obesity. *J Biol Chem.* 271, 10697-10703.
  28. James DE, Kraegen EW, Chisholm DJ. (1984): Effect of exercise training on whole-body insulin sensitivity and responsiveness. *J Appl Physiol.* 56 (5), 1217-1222.
  29. Jezek P, Hlavatá L. (2005): Mitochondria in homeostasis of reactive oxygen species in cell, tissues, and organism. *Int J Biochem Cell Biol.* 37 (12), 2478-2503.
  30. Klötting N, Berndt J, Kralisch S, Kovacs P, Fasshauer M, Schön MR, Stumvoll M, Blüher M. (2006): Vaspin gene expression in human adipose tissue: association with obesity and type 2 diabetes. *Biochem Biophys Res Commun.* 339 (1), 430-436.

31. Klöting N, Fasshauer M, Dietrich A, Kovacs P, Schön MR, Kern M, Stumvoll M, Blüher M. (2010): Insulin-sensitive obesity. *Am J Physiol Endocrinol Metab* (299), E506-E515.
32. Korge P, Ping P, Weiss JN. (2008): Reactive oxygen species production in energized cardiac mitochondria during hypoxia/reoxygenation: modulation by nitric oxide. *Circ Res.* 103 (8), 873-880.
33. Kowaltowski AJ, de Souza-Pinto NC, Castilho RF, Vercesi AE. (2009): Mitochondria and reactive oxygen species. *Free Radic Biol Med.* 47 (4), 333-343.
34. Kurioka H, Takahashi K, Miyazaki K. (2007): Glucose intolerance in Japanese patients with polycystic ovary syndrome. *Arch Gynecol Obstet.* 275 (3), 169-173.
35. Lindsay RS, Funahashi T, Hanson RL, Matsuzawa Y, Tanaka S, Tataranni PA, Knowler WC, Krakoff J. (2002): Adiponectin and development of type 2 diabetes in the Pima Indian population. *Lancet.* 360, 57-58.
36. Li Q, Chen R, Moriya J, Yamakawa J, Sumino H, Kanda T, Takahashi T. (2008): A novel adipocytokine, visceral adipose tissue-derived serine protease inhibitor (vaspin), and obesity. *J Int Med Res.* 36, 625-629.
37. Maeda N, Shimomura I, Kishida K, Nishizawa H, Matsuda M, Nagaretani H, Furuyama N, Kondo H, Takahashi M, Arita Y, Komuro R, Ouchi N, Kihara S, Tochino Y, Okutomi K, Horie M, Takeda S, Aoyama T, Funahashi T, Matsuzawa Y. (2002): Diet-induced insulin resistance in mice lacking adiponectin/ACRP30. *Nat. Med.* 8 (7), 731-737.M
38. Mari M, Morales A, Colell A, Garcia-Ruiz C, Fernandez-Checa JC. (2009): Mitochondrial glutathione, a key survival antioxidant. *Antioxid Redox Signal.* 11 (11), 2685-700.
39. McClung JP, Roneker CA, Mu W, Lisk DJ, Langlais P, Liu F, Lei XG. (2004): Development of insulin resistance and obesity in mice overexpressing cellular glutathione peroxidase. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 101 (24), 8852-8857.
40. Muse ED, Obici S, Bhanot S, Monia BP, McKay RA, Rajala MW, Scherer PE, Rossetti L. (2004): Role of resistin in diet-induced hepatic insulin-resistance. *J Clin Invest.* 114 (2), 232-9.
41. Oberbach A, Kirsch K, Lehmann S, Schlichting N, Fasshauer M, Zarse K, Stumvoll M, Ristow M, Blüher M, Kovacs P (2010): Serum vaspin concentrations are



- decreased after exercise induced oxidative stress. *Obesity Facts*. In press. Ms No.: 201003005.
42. Oberbach A, Lehmann S, Kirsch K, Krist Joanna, Sonnabend M, Linke A, Tönjes A, Stumvoll M, Blüher M, Kovacs P. (2008): Long-term exercise training decreases interleukin-6 (IL-6) serum levels in subjects with impaired glucose tolerance: effect of the -174G/C variant in IL-6 gene. *Eur J Endocrinol*. 159 (2), 129-136.
  43. Ott M, Gogvadze V, Orrenius S, Zhivotovsky B. (2007): Mitochondria, oxidative stress and cell death. *Apoptosis*. 12, 913-922.
  44. Pedersen BK, Akerström TC, Nielsen AR, Fischer CP. (2007): Role of myokines in exercise and metabolism. *J Appl Physiol*. 103 (3), 1093-1098.
  45. Pedersen BK, Febbraio MA. (2008): Muscle as an endocrine organ: focus on muscle-derived interleukin-6. *Physiol Rev*. 88 (4), 1379-1406.
  46. Pedersen BK, Steensberg A, Schjerling P. (2001): Muscle derived interleukin-6: possible biological effects. *J Physiol*. 536 (Pt 2), 329-337.
  47. Powers SK, Jackson MJ. (2008): Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanism and impact on muscle force production. *Physiol. Rev*. 88 (4), 1243-1276.
  48. Pravenec M, Kazdová L, Landa V, Zidek V, Mlejnek P, Jansa P, Wang J, Qi N, Kurtz TW. (2003): Transgenic and recombinant resistin impair skeletal muscle glucose metabolism in the spontaneously hypertensive rat. *J Biol Chem*. 278 (46), 45209-45215.
  49. Rabe K, Lehrke M, Parhofer KG, Broedl UC. (2008): Adipokines and insulin resistance. *Mol Med*. 14 (11-12), 741-751.
  50. Rangwala SM, Rich AS, Rhoades B, Shapiro JS, Obici S, Rossetti L, Lazar MA. (2004): Abnormal glucose homeostasis due to chronic hyperresistinemia. *Diabetes*. 53 (8), 1937-1941.
  51. Rasouli N, Kern PA. (2008): Adipocytokines and the metabolic complications of obesity. *J Clin Endocrinol Metab*. 93 (11 Suppl 1), 64-73.
  52. Ristow M, Zarse K, Oberbach A, Klötting N, Birringer M, Kiehntopf M, Stumvoll M, Kahn RC, Blüher M. (2009): Antioxidants prevent health-promoting effects of physical exercise in humans. *PNAS*. 106 (21), 8665-8670.

53. Sartipy P, Loskutoff DJ. (2003): Monocyte chemoattractant protein 1 in obesity and insulin resistance. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 100 (12), 7265-7270.
54. Schulz TJ, Zarse K, Voigt A, Urban N, Birringer M, Ristow M. (2007): Glucose restriction extends *Caenorhabditis elegans* life span by inducing mitochondrial respiration and increasing oxidative stress. *Cell Metab.* 6 (4), 280-293.
55. Seeger J, Ziegelmeier M, Bachmann A, Lössner U, Kratzsch J, Blüher M, Stumvoll M, Fasshauer M. (2008): Serum levels of the adipokine vaspin in relation to metabolic and renal parameters. *J Clin Endocrinol Metab.* 93 (1), 247-251.
56. Singh MK, Krisan AD, Crain AM, Collins DE, Yaspelkis BB 3rd. (2003): High-fat diet and leptin treatment alter skeletal muscle insulin-stimulated phosphatidylinositol 3-kinase activity and glucose transport. *Metabolism.* 52 (9), 1196-1205.
57. Spranger J, Kroke A, Möhlig M, Bergmann MM, Ristow M, Boeing H, Pfeiffer AF. (2003): Adiponectin and protection against type 2 diabetes mellitus. *Lancet.* 361, 226-228.
58. Stepan CM, Bailey ST, Bhat S, Brown EJ, Banerjee RR, Wright CM, Patel HR., Ahima RS, Lazar MA. (2001): The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature.* 409, 307-312.
59. Tabák AG, Jokela M, Akbaraly TN, Brunner EJ, Kivimäki M, Witte DR. (2009): Trajectories of glycaemia, insulin sensitivity, and insulin secretion before diagnosis of type 2 diabetes: an analysis from the Whitehall II study. *Lancet.* 373 (9682), 2215-2221.
60. Tan BK, Heutling D, Chen J, Farhatullah S, Adya R, Keay SD, Kennedy CR, Lehnert H, Randeve HS. (2008): Metformin decreases the adipokine vaspin in overweight women with polycystic ovary syndrome concomitant with improvement in insulin sensitivity and a decrease in insulin resistance. *Diabetes.* 57 (6), 1501-1507.
61. Trappe HJ, Löllgen H (2000). Guidelines for ergometry: German Society of Cardiology-Heart and Cardiovascular Research. *Z. Kardiol.* 89(9), 821-831.
62. Tsuchida A, Yamauchi T, Ito Y, Hada Y, Maki T, Takekawa S, Kamon J, Kobayashi M, Suzuki R, Hara K, Kubota N, Terauchi Y, Froguel P, Nakae J, Kasuga M, Accili D, Tobe K, Ueki K, Nagai R, Kadowaki T. (2004): Insulin/Foxo1 pathway regulates

- expressions levels of adiponectin receptors and adiponectin sensitivity. *J Biol Chem.* 279 (29), 30817-30822.
63. Uysal KT, Wiesbrock SM, Marino MW, Hotamisligil GS. (1997): Protection from obesity-induced insulin resistance in mice lacking TNF- $\alpha$  function. *Nature.* 389, 610-614.
  64. Vignesh JP, Mohan V. (2007): Polycystic ovary syndrome: A component of metabolic syndrome?. *J Postgrad Med.* 53 (2), 128-134.
  65. Wada J. (2008): Vaspin: a novel serpin with insulin-sensitizing effects. *Expert Opin Investig Drugs.* 17 (3), 327-333.
  66. Wallberg-Henriksson H, Rincon J, Zierath JR (1998): Exercise in the management of non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Sports Med.* 25 (2): 130.
  67. Warburton DE, Nicol CW, Bredin SS. (2006): Health benefits of physical activity: the evidence. *Can Med Ass J.* 174 (6), 801-809.
  68. Weigert C, Hennige AM, Lehmann R, Brodbeck K, Baumgartner F, Schäuble M, Häring HU, Schleicher ED. (2006): Direct cross-talk of interleukin-6 and insulin signal transduction via insulin receptor substrate-1 in skeletal muscle cells. *J Biol Chem.* 281 (11), 7060-7067.
  69. Wolf AS, Sterzik K. (1998): Obesity-significance in adolescence and for reproduction. *Zentralbl Gynakol.* 120 (5), 210-222.
  70. Wolf G, Chen S, Han DC, Ziyadeh FN. (2002): Leptin and renal disease. *Am. J. Kidney Dis.* 39, 1-11.
  71. Xia Z, Sniderman AD, Cianflone K. (2002): Acylation-stimulating protein (ASP) deficiency induces obesity resistance and increased energy expenditure in ob/ob mice. *J. Biol. Chem.* 277 (48), 45874-45879.
  72. Yagi K. (1982): Lipid peroxides in biology and medicine. In. New York: Academic Press. 223-242.
  73. Yamauchi T, Kamon J, Waki H, Imai Y, Shimozawa N, Hioki K, Uchida S, Ito Y, Takakuwa K, Matsui J, Takata M, Eto K, Terauchi J, Komeda K, Tsunoda M, Murakami K, Ohnishi Y, Naitoh T, Yamamura K, Ueyama Y, Froguel P, Kimura S, Nagai R, Kadowaki T. (2003): Globular adiponectin protected ob/ob mice from diabetes and ApoE-deficient mice from atherosclerosis. *J. Biol. Chem.* 278 (4), 2461-2468.

74. Yamauchi T, Kamon J, Waki H, Terauchi Y, Kubota N, Hara K, Mori Y, Ide T, Murakami K, Tsuboyama-Kasaoka N, Ezaki O, Akanuma Y, Gavrilova O, Vinson C, Reitman ML, Kagechika H, Shudo K, Yoda M, Nakano Y, Tobe K, Nagai R, Kimura S, Tomita M, Froguel P, Kadowaki T. (2001): The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipodystrophy and obesity. *Nat Med.* 7 (8), 941-946.
75. Yamauchi T, Nio Y, Maki T, Kobayashi M, Takazawa T, Iwabuchi M, Okada-Iwabuchi M, Kawamoto S, Kubota N, Kubota T, Ito Y, Kamon J, Tsuchida A, Kumagai K, Kozono H, Hada Y, Ogata H, Tokuyama K, Tsunoda M, Ide T, Murakami K, Awazawa M, Takamoto I, Froguel P, Hara K, Tobe K, Nagai R, Ueki K, Kadowaki T. (2007): Targeted disruption of AdipoR1 and AdipoR2 causes abrogation of adiponectin binding and metabolic actions. *Nat Med.* 13 (3), 332-339.
76. Yaspelkis BB 3rd, Singh MK, Krisan AD, Collins DE, Kwong CC, Bernard JR, Crain AM. (2004): Chronic leptin treatment enhances insulin-stimulated glucose disposal in skeletal muscle of high-fat fed rodents. *Life Sci.* 74 (14), 1801-1816.
77. Youn BS, Klöting N, Kratzsch J, Lee N, Park JW, Song ES, Ruschke K, Oberbach A, Fasshauer M, Stumvoll M, Blüher M. (2008): Serum vaspin concentrations in human obesity and type 2 diabetes. *Diabetes.* 57 (2), 372-377.
78. Youn BS, Yu KY, Park HJ, Lee NS, Min SS, Youn MY, Cho YM, Park YJ, Kim SY, Lee HK, Park KS. (2004): Plasma resistin concentrations measured by enzyme-linked immunosorbent assay using a newly developed monoclonal antibody are elevated in individuals with type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab.* 89 (1), 150-156.
79. Zierath JR. (2002): Exercise training-induced changes in insulin signaling in skeletal muscle. *J Appl Physiol.* 93 (2), 773-781.

## 5. Publikation

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde ein wissenschaftlicher Artikel zur Publikationsreife gebracht. Der Hauptteil der dargestellten Ergebnisse wird in der Publikation „Serum vaspin concentrations are decreased after exercise induced oxidative stress.“ erarbeitet.

### Autoren

Oberbach A, \*, **Kirsch K**, \*, Lehmann S, Schlichting N, Fasshauer M, Zarse K, Stumvoll M, Ristow M, Blüher M, Kovacs P

\*A. Oberbach and K. Kirsch contributed equally to this work

### Bibliografie

Obesity Facts (2010). In press. Ms No.: 201003005

## Brief Report

### Serum vaspin concentrations are decreased after exercise induced oxidative stress

Andreas Oberbach<sup>1\*</sup>, Katharina Kirsch<sup>1\*</sup>, Stefanie Lehmann<sup>1</sup>, Nadine Schlichting<sup>1</sup>,  
Mathias Fasshauer<sup>1</sup>, Kim Zarse<sup>2</sup>, Michael Stumvoll<sup>1</sup>, Michael Ristow<sup>2</sup>, Matthias Blüher<sup>1</sup>,  
Peter Kovacs<sup>3</sup>

*1: Department of Medicine, University of Leipzig, Leipzig, Germany*

*2: Department of Human Nutrition, Institute of Nutrition, University of Jena, Jena, Germany*

*3: Interdisciplinary Centre for Clinical Research, Faculty of Medicine, University of Leipzig, Leipzig, Germany*

\* These authors contributed equally to the work

**Keywords:** obesity, type 2 diabetes, vaspin, exercise, antioxidants, oxidative stress, insulin sensitivity

**ClinicalTrials.gov registration number:** NCT00638560

Corresponding authors:

Matthias Blüher, MD  
Department of Medicine

Faculty of Medicine  
University of Leipzig  
Liebigstr 20  
D-04103 Leipzig  
Tel. (+49) 341-9715984  
Fax (+49) 341-9722439  
[bluma@medizin.uni-leipzig.de](mailto:bluma@medizin.uni-leipzig.de)

Peter Kovacs, PhD  
Interdisciplinary Center for Clinical Research  
Faculty of Medicine  
University of Leipzig  
Inselstrasse 22  
D-04103 Leipzig  
Tel. (+49) 341-9715892  
Fax (+49) 341-9715979  
[peter.kovacs@medizin.uni-leipzig.de](mailto:peter.kovacs@medizin.uni-leipzig.de)

## **Abstract**

Elevated visceral adipose tissue-derived serpin (vaspin) serum concentrations are associated with impaired insulin sensitivity, but increase unexpectedly after long-term physical training. We therefore investigated the effect of an acute exercise bout and the effects of vitamin supplementation on chronic exercise effect on serum vaspin concentrations. We measured serum vaspin concentrations in 80 individuals before and after a 1-hour acute exercise bout, and independently in 24 healthy young men who were randomly assigned to either antioxidant (vitamin C (1000mg/day) and vitamin E (400IU/day)) or to no supplementation after a standardized 4-week physical training program as a post hoc analysis. Serum vaspin concentrations significantly decreased after acute physical exercise as well as after 4 weeks of training in individuals without antioxidants. Interestingly, supplementation with antioxidants rather increased circulating vaspin levels in response to 4 weeks of exercise. In conclusion, vaspin serum concentrations are decreased by exercise induced oxidative stress, but not by exercise associated improvement in insulin sensitivity.

## **Introduction**

Visceral adipose tissue-derived serpin (vaspin) was identified as an adipokine with insulin-sensitizing effects, which is predominantly secreted from visceral adipose tissue in a rat model of type 2 diabetes [1]. We recently reported that elevated vaspin serum concentrations are associated with obesity and impaired insulin sensitivity [2, 3]. Surprisingly, we also found that 4 weeks of physical exercise lead to increased vaspin serum concentrations. Exercise related increase in circulating vaspin was significantly associated with decreased BMI, but also with BMI-independent improvement in insulin sensitivity and in fitness level. We therefore hypothesize that increased vaspin serum concentrations are directly related to the insulin sensitizing effects of physical activity. To further elucidate the putative effects of physical exercise on circulating vaspin, we investigated vaspin serum concentrations in response to two different exercise interventions. We measured circulating vaspin before and after an one hour resistance circle training as well as before and after a 4 week exercise intervention in healthy young men, which had been randomly assigned to groups with or without antioxidants supplementation, as previously described [4] to elucidate the potential role of exercise-induced reactive oxygen species (ROS) in modulating circulating vaspin in humans.

## **Materials and Methods**

*Ethics Statement.* The study was approved by the Ethics Committee of the University of Leipzig. All subjects gave written informed consent before taking part in the study.



*Acute exercise bout.* Eighty healthy males (age  $25 \pm 2.8$  years) were assigned to groups of athletes (n=20), previously trained (n=20) and untrained lean ( $\text{BMI} < 23 \text{ kg/m}^2$ ) (n=20) or obese ( $\text{BMI} > 30 \text{ kg/m}^2$ ) (n=20) based on self-reported physical activity and completed one 60 minutes resistance circuit training at 80% of individual maximal power. The training session consisted of three repetitions at ten different stations. Before, immediately after, and after 24 and 48 hours, blood samples were taken.

*Long-term antioxidant supplementation study.* Forty healthy males participated in a prospective randomized 4 week intensive training intervention from study as previously described [4]. Randomization was stratified according to gender, age and BMI. The randomization was performed centrally at the University of Leipzig Clinical Data Center, computer-assisted, using Pocock's minimization algorithm. The study design is depicted in the supplementary figure 1. Measurement of vaspin represents a post hoc analysis only of the blinded part (n=12 per study arm) of the previously reported trial [4]. Participants were randomized into an antioxidant treatment ( $n = 12$ ) and a placebo control group ( $n = 12$ ). Participants in the antioxidant treatment group received 1000 mg vitamin C (Ascorbic acid, Jenapharm) and 400 IU vitamin E (RRR-/D- $\alpha$ -tocopherol, Jenapharm) per day orally. All individuals were subjected to supervised physical training, which consisted of training sessions on 5 consecutive days of the week for 4 weeks. Each session included 20 min of biking or running, 45 min of circuit training, and 20 min periods for warming up and cooling down. All individuals completed a graded bicycle-ergometer test and trained at their individual submaximal heart rate. At baseline and after 4 weeks of training blood samples were obtained three days after the last acute exercise bout between 8–10 a.m. after an overnight fast. The present study was approved by the ethics committee of the

University of Leipzig, Leipzig, Germany. All study participants gave written informed consent before initiation of the study. The study design was registered at ClinicalTrials.gov registration number NCT00638560. Measurement of vaspin serum concentrations was performed using ELISA as described [2].

*Statistical analyses* were performed with SPSS, Version 15.0. Group comparisons were made using 2-sided unpaired Student's *t* for the antioxidant supplementation study and using ANOVA for the acute exercise bout study. Sample size was calculated to achieve a power of 90% at a significance level of 5% using the program nQuery Advisor<sup>®</sup> 6.0.

## **Results**

Short-term physical exercise causes decreased vaspin serum concentrations, which become significant compared to baseline at different time points depending on the subjects' training status (Figure 1A). Baseline circulating vaspin was not significantly different between groups of athletes, previously trained and untrained lean ( $\text{BMI} < 23 \text{ kg/m}^2$ ) or obese ( $\text{BMI} > 30 \text{ kg/m}^2$ ) healthy young men. After the 4-week training program, we also observe a significant decrease in vaspin serum concentrations ( $p < 0.05$ ). In contrast, individuals who received antioxidants exhibit a significant increase in circulating vaspin (Figure 1B). There were no adverse events or side effects associated with the acute exercise bout and the long-term antioxidant supplementation study [4].

## **Discussion**

Lower vaspin serum concentrations have been a consistent finding in lean insulin sensitive compared to obese individuals [2, 3, 5, 6]. We recently found a significant negative relationship between circulating vaspin and glucose infusion rate during the steady state of

an euglycemic-hyperinsulinemic clamp [2]. However, we observed an unexpected increase in vaspin serum concentrations after a 4-week exercise training program [2], which positively correlated with improvement of insulin sensitivity. The aim of this study was therefore to elucidate mechanisms beyond the association between circulating vaspin and insulin sensitivity that could explain the paradoxical regulation of vaspin serum concentrations, specifically in relation to exercise. Physical exercise exerts numerous health-promoting effects including improvement of insulin sensitivity [7]. These effects may be independent of exercise-related changes in body mass [8]. In response to physical exercise, skeletal muscle generates reactive oxygen species (ROS), which may mediate some of the health-promoting effects of exercise [4, 9, 10]. Here we demonstrate that the previously shown increased oxidative stress following physical exercise [4] leads to reduced vaspin serum concentrations immediately after the training session with sustained lower circulating vaspin 48 hours after an acute exercise bout. To further elucidate the effects of oxidative stress on circulating vaspin, we compared vaspin levels in young and healthy men after 4 weeks of an intensive exercise training program in the presence or absence of antioxidant treatment. In individuals without antioxidant supplementation, we found significantly lower circulating vaspin after 4 weeks training consistent with the recently reported significant improvement in insulin sensitivity [4]. In contrast, in individuals who received antioxidants during the 4-week training, vaspin serum concentrations were found to be significantly increased. This latter finding in the antioxidant supplementation group supports our previous finding that physical exercise increases insulin sensitivity by induction of ROS in humans [4]. The recently reported increased vaspin serum concentrations after a 4 weeks training intervention in patients with type 2 diabetes, normal and impaired glucose tolerance [2] either suggest that patients in

the previous study had unrecognized antioxidant supplementation or that the previously reported training intensity was not sufficient to chronically increase oxidative stress.

In conclusion, our results demonstrate that increased oxidative stress following short- and long-term physical training decreases vaspin serum concentration, whereas changes in insulin sensitivity do not seem to regulate circulating vaspin.

### **Acknowledgements**

This work was supported by grants from Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) KO 3880/1-1 (to PK), the Clinical Research group “Atherobesity” KFO 152 (project BL 833/1-1) (MB), project FA 476/4-1 (MF).

## References

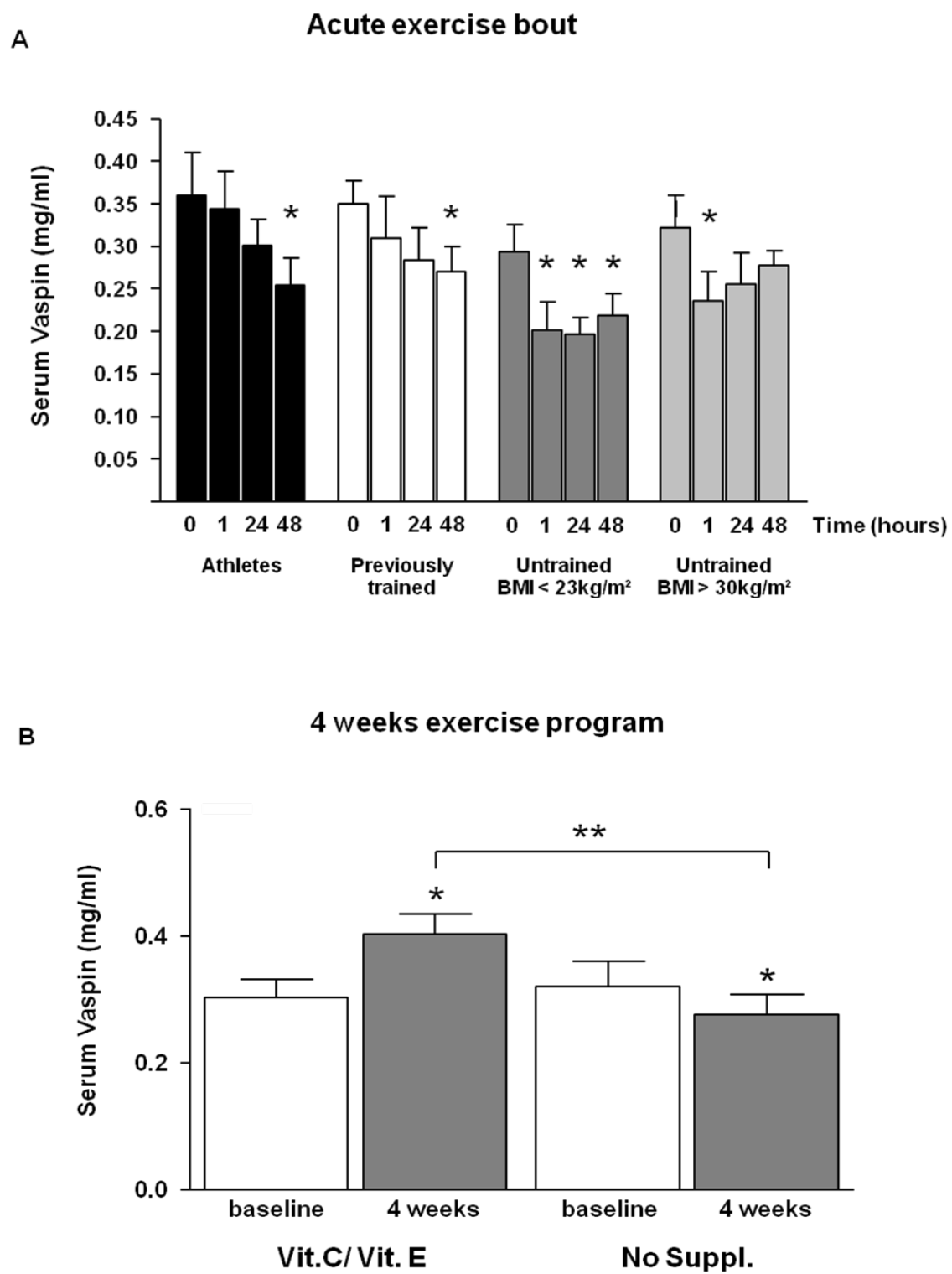
1. Hida K, Wada J, Eguchi J, Zhang H, Baba M, Seida A, Hashimoto I, Okada T, Yasuhara A, Nakatsuka A, Shikata K, Hourai S, Futami J, Watanabe E, Matsuki Y, Hiramatsu R, Akagi S, Makino H, Kanwar YS: Visceral adipose tissue-derived serine protease inhibitor: A unique insulin-sensitizing adipocytokine in obesity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;102:10610-10615.
2. Youn BS, Klöting N, Kratzsch J, Lee N, Park JW, Song ES, Ruschke K, Oberbach A, Fasshauer M, Stumvoll M, Blüher M: Serum vaspin concentrations in human obesity and type 2 diabetes. *Diabetes* 2008;57: 372-377.
3. Klöting N, Berndt J, Kralisch S, Kovacs P, Fasshauer M, Schön MR, Stumvoll M, Blüher M: Vaspin gene expression in human adipose tissue: association with obesity and type 2 diabetes. *Biochem Biophys Res Commun* 2006;339: 430-436.
4. Ristow M, Zarse K, Oberbach A, Klöting N, Birringer M, Kiehnopf M, Stumvoll M, Kahn CR, Blüher M: Antioxidants prevent health-promoting effects of physical exercise in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009;106: 8665-8670.
5. Handisurya A, Riedl M, Vila G, Maier C, Clodi M, Prikoszovich T, Ludvik B, Prager G, Luger A, Kautzky-Willer A: Serum Vaspin Concentrations in Relation to Insulin Sensitivity Following RYGB-Induced Weight Loss. *Obes Surg* 2009;17: 1184-1188.
6. Suleymanoglu S, Tascilar E, Pirgon O, Tapan S, Meral C, Abaci A: Vaspin and its correlation with insulin sensitivity indices in obese children. *Diabetes Res Clin Pract* 2009;84: 325-328.
7. Warburton DE, Nicol CW, Bredin SS: Health benefits of physical activity: the evidence. *CMAJ* 2006;174:801-809.
8. Duncan GE, Perri MG, Theriaque DW, Hutson AD, Eckel RH, Stacpoole PW: Exercise training, without weight loss, increases insulin sensitivity and postheparin plasma lipase activity in previously sedentary adults. *Diabetes Care* 2003; 26: 557-562.
9. Powers SK, Jackson MJ: Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiol Rev* 2008;88:1243-1276.

10. Kelley DE, Goodpaster BH: Effects of exercise on glucose homeostasis in Type 2 diabetes mellitus. *Med Sci Sports Exerc* 2001;33: S495-S501.

## Figure legend

**Figure 1. Effects of exercise training on vaspin serum concentrations.** (A) Effect of 60 minutes resistance circuit training at 80% of individual maximal power on vaspin serum concentrations in 80 healthy young (age  $25 \pm 2.8$  years) males. Circulating vaspin in groups of athletes, previously trained and untrained lean ( $\text{BMI} < 23 \text{ kg/m}^2$ ) or obese ( $\text{BMI} > 30 \text{ kg/m}^2$ ) (each group,  $n=20$ ) before, immediately (i.e. time point 1 hour), 24 and 48 hours after the training session. (B) Vaspin serum concentrations before and after 4-weeks exercise training intervention in individuals without (No suppl.,  $n=12$ ) or with antioxidant supplementation (Vit.C/Vit.E,  $n=12$ ). At baseline and after 4 weeks of training blood samples were obtained three days after the last acute exercise bout between 8–10 a.m. after an overnight fast. Participants in the antioxidant treatment group received 1000 mg vitamin C (Ascorbic acid, Jenapharm) and 400 IU vitamin E (RRR-/D- $\alpha$ -tocopherol, Jenapharm) per day orally. Data are means  $\pm$  SEM. \*  $p < 0.05$  compared to baseline. Bracket indicate significant different vaspin serum concentration after 4 weeks training between individuals with or without antioxidant treatment (\*\*,  $p < 0.01$ ).

Figure 1





## **6. Zusammenfassung der Arbeit**

Publikationsdissertation zur Erlangung des akademischen Grades Dr. med.

### **Titel**

Die Serumvaspinkonzentration in Abhängigkeit von trainingsinduziertem oxidativen Stress

### **eingereicht von**

Katharina Kirsch, Assistenzärztin für Innere Medizin/Kardiologie

### **angefertigt an der**

Universität Leipzig, Medizinische Klinik III, Klinik und Poliklinik für Endokrinologie und Nephrologie

### **betreut von**

Prof. Dr. Matthias Blüher

PD Dr. Peter Kovacs

Dr. Andreas Oberbach MPH

Monat und Jahr der Einreichung

September 2010

Insbesondere dem viszeralen Fettgewebe werden pathogene Eigenschaften in der Entwicklung des Typ 2 Diabetes mellitus zugesprochen. Einige Autoren verdeutlichen die Rolle des Fettgewebes als eine Quelle für die Zytokinexpression im Organismus. Diese Adipozytokine modulieren die Insulinsensitivität in Abhängigkeit des Stimulus und der nachfolgenden intrazellulären Signalkaskaden in der Muskulatur, Leber und anderen Zielgeweben. Das Adipozytokin Vaspin wurde erstmalig 2005 beschrieben. Dieses Protein wird vorrangig im viszeralen Fettgewebe exprimiert und wurde im Serum als Serin-Protease-Inhibitor identifiziert. Die Detektionsgrenze im viszeralen Fett für Vaspin auf genomischer Ebene liegt bei einem BMI  $> 25 \text{ kg/m}^2$ . Frauen weisen höhere Serumvaspinkonzentrationen als Männer auf. Der BMI ist eine positive Prädiktorvariable für die Serumvaspinkonzentration. Weiterhin zeigen

Untersuchungen einen protektiven Einfluss von Vaspin auf den Glukosestoffwechsel und belegen einen möglichen Zusammenhang mit der Pathogenese des Typ 2 Diabetes mellitus. Hohe Vaspinkonzentrationen werden mit einem gestörten Glukosestoffwechsel assoziiert. Nach pharmakologischer Intervention mit Insulin oder oralen Antidiabetika und somit einer nachfolgenden Verbesserung des Glukosestoffwechsels, wird eine statistisch signifikante Verminderung der Vaspinkonzentration im Serum beobachtet. Youn et al. (2008) überprüften die Regulation des Serumvaspins durch eine Steigerung der körperlichen Leistungsfähigkeit mittels eines 4-wöchigen Trainings von NGT (normale Glukosetoleranz)-, IGT (gestörte Glukosetoleranz)- und Typ 2 Diabetes mellitus Patienten. Die Autoren beschreiben einen Anstieg der Serumvaspinkonzentration im Verlauf der Therapieintervention sowie eine Verbesserung der Glukosehomöostase im Sinne von einer Reduktion des WHR (Waist-hip-ratio), BMI (Body mass index), der relativen Fettmasse, sowie des ssCRP (super sensitive C-reaktives Protein) und einer Erhöhung des antiinflammatorischen Zytokins IL-10 (Interleukin-10). Schließlich deckte eine multivariate Regressionsanalyse auf, dass ein reduzierter BMI, eine verbesserte Insulinsensitivität und ein erhöhter Fitnesslevel ( $VO_{2max}$ ) Einflussparameter für eine erhöhte Vaspinkonzentration nach körperlicher Aktivität darstellen. Die Steigerung der körperlichen Aktivität führt akut und im Ergebnis der Langzeitbetrachtung zur Änderung des Radikalestoffwechsels auf zellulärer Ebene in der Muskulatur und auf systemischer Ebene im Serum. Die Änderung der Vaspinkonzentration nach körperlicher Belastung kann demzufolge auch dem Einfluss des Radikalestoffwechsels unterliegen. Eine Vielzahl von Untersuchungen verweisen auf einen erhöhten Radikalestoffwechsel bei manifestem Typ 2 Diabetes mellitus, sowohl im Serum als auch im Fett- und Muskelgewebe hin.

#### *Wissenschaftliche Fragestellung*

Offen bleibt die Frage, ob die Erhöhung der Vaspinkonzentration auf einen verbesserten Glukosestoffwechsel zurückzuführen ist, oder unter dem Einfluss des Diabetes-induzierten Radikalestoffwechsels steht. Ein gesteigerter Radikalestoffwechsel in der Muskulatur wird insbesondere unter intensiver

körperlicher Belastung beobachtet und wurde als Modell zur Untersuchung des Zusammenhangs zwischen Vaspin und dem oxidativen Stress herangezogen.

### *Methodik*

Zur Darstellung der Serumvaspinkonzentration unter physischen submaximalen Ermüdungsbedingungen wurde sowohl ein 60-minütiges Kraftausdauerprogramm als auch ein Spiroergometrietest bis zur maximalen Erschöpfung durchlaufen (n=80).

Die *Belastungsintensität* im Kraftausdauerprogramm betrug 80 Prozent der individuellen Maximalkraft und beinhaltete 4 Runden mit 10 Übungen verschiedener Muskelgruppen, einer Belastungsdauer von 30 Sekunden sowie einer Regenerationsdauer von 60 Sekunden. Die Messung des Serumvaspins erfolgte vor Belastung, direkt im Anschluss der Intervention sowie nach 24 und 48 Stunden Regenerationszeit. Der *Spiroergometrietest* erfolgte als Stufentestverfahren auf dem Fahrradergometer bis zur maximalen Erschöpfung und diente der Darstellung der Serumvaspinkonzentration nach kurzer Intervention bei maximaler körperlicher Anstrengung. Der Belastungstest begann bei 70 Watt für 3 Minuten und wurde dann alle 30 Sekunden um 25 Watt bis zur subjektiven Erschöpfung gesteigert. Um den Einfluss des *Radikalestoffwechsels* auf die Serumvaspinkonzentration zu ermitteln, wurden 24 Probanden randomisiert in zwei Therapiearme aufgeteilt. Die erste Gruppe erhielt ein Placebopräparat in gleicher Medikationsfolge wie die Vitamin-Gruppe. Der zweite Therapiearm wurde mit 10 mg Vitamin C sowie 400 IU Vitamin E pro Tag behandelt. Ein vierwöchiges Kraftausdauerprogramm mit 4-5 Trainingseinheiten pro Woche und submaximalen Belastungsintensitäten (80-90 % der maximalen Kraftwerte) wurde realisiert. Am 1. Tag der jeweiligen Therapiewoche, nach zweitägigen Ruhepausen und 10 Stunden Nahrungskarenz erfolgten die Blutentnahmen zur Bestimmung der Vaspinkonzentration. Die Messung des Radikalestoffwechsels erfolgte mittels TBARS.

### *Ergebnisdarstellung*

Eigene Untersuchungen zur Überprüfung der Interaktion zwischen dem Glukosestoffwechsel und der Vaspinkonzentration, als mögliche Einflussvariable auf die Glukosehomöostase belegen ebenfalls einen kurzzeitigen Regelmechanismus des

Vaspins unter Belastungsbedingungen. Sowohl ermüdende maximale Ausbelastungszustände sowie Kraftausdauerbelastungen über 60 Minuten führen in Abhängigkeit des Trainingszustandes und der maximalen Leistungsfähigkeit zu einer Senkung der Serumvaspinkonzentration. Im Vergleich hierzu führen muskelerschöpfende Belastungen bis zu 48 h nach körperlicher Aktivität zu einer Reduzierung des Serumvaspins. Bemerkenswert in der eigenen Untersuchung ist, dass die intraindividuellen Schwankungen der Vaspinkonzentration postprandial erheblich die Ausgangskonzentration vor den Untersuchungen beeinflussen. So hat die Gruppe mit einem BMI > 30 zum Zeitpunkt der Spiroergometrie signifikant niedrigere Vaspinkonzentrationen als die Gruppe der Athleten. Die gleichen Probanden zeigen zum Zeitpunkt vor dem Kraftausdauer-test keinen statistisch relevanten Unterschied der Serumvaspinkonzentration.

Im zweiten Teil der Untersuchung wurde der Einfluss des Radikalestoffwechsels auf die Serumvaspinkonzentration in einer prospektiv-randomisierten placebokontrollierten Studie durch Supplementierung von Vitamin C und E geprüft. Durch eine Herabsetzung des Radikalestoffwechsels mittels einer 4-wöchigen Vitamin C -und E-Applikation zeigt sich ein signifikanter Anstieg der Serumvaspinkonzentration nach körperlicher Belastung, während ein renaler Abbauweg aufgrund eines fehlenden Nachweises im Urin unwahrscheinlich scheint. Im Gegensatz dazu sinkt die Serumvaspinkonzentration nach 4 Wochen ohne Vitaminsupplementation. Zusammenfassend beeinflusst der Radikalestoffwechsel die Vaspinhomöostase auf metabolischem Weg.

### *Ergebnisdiskussion*

Da Vaspin als Serin-Protease-Inhibitor fungiert, ist auch eine Freisetzung der Reaktionspartner unter Belastungsbedingungen ins Serum denkbar. Nähere Kenntnisse würden durch die Identifikation der Reaktionspartner ermöglicht. Weiterhin kann ein erhöhter Abbau des Vaspins ursächlich sein. Untersuchungen im Urin, sowohl vor, als auch direkt im Anschluss an Spiroergometrie- und Kraftausdauerbelastung, konnten kein Vaspin detektieren. Die renale Elimination ist anscheinend kein Grund für die verminderte Konzentration des Adipozytokins im Serum nach körperlicher Aktivität. Eine Erklärung für die anhaltende Minderung des Vaspins nach einem erschöpfenden Muskeltraining könnte in der bis zu 72 Stunden nach erschöpfender Belastung

gesteigerten Insulinsensitivität liegen. Es ist bekannt, dass eine Verbesserung der Insulinsensitivität und ein Rückgang der Insulinresistenz die Serumvaspinkonzentration erhöht. Die eigenen Untersuchungen können jedoch den Zusammenhang zwischen gesteigerter Insulinsensitivität und verminderter Serumvaspinkonzentration nicht kausal belegen. Ein gesteigerter Radikalestoffwechsel in der Muskulatur wird insbesondere unter intensiver körperlicher Belastung beobachtet und wurde als Modell zur Untersuchung des Zusammenhangs zwischen Vaspin und oxidativem Stress herangezogen. Unter gegebenen Belastungsbedingungen können sowohl freie Radikale, als auch eine Freisetzung der Reaktionspartner von Vaspin, für die differentielle Regulation verantwortlich sein. Eine weitere Erklärung bezieht sich auf die verminderte Resyntheseleistung des Fettgewebes in Abhängigkeit der Belastungsintensität. Auch die gesteigerte Insulinsensitivität nach körperlicher Aktivität ist als Ursache des Absenkens der Vaspinkonzentration nach einer 4-wöchigen körperlichen Belastung ohne Vitaminsupplementation denkbar.

### *Schlussfolgerung*

Hohe intraindividuelle Schwankungen sowie belastungsabhängige Änderungen des Stoffwechsels beeinflussen die Serumvaspinkonzentration nachhaltig. Der Radikalestoffwechsel modifiziert die Vaspinhomöostase sowohl auf metabolischem Weg. Weitere Anstrengungen sollten in der Identifikation der Reaktionspartner unternommen werden, um den Einfluss der Änderung der Insulinsensitivität oder des ROS (Reactive Oxygen Species) genauer aufzudecken.

### **Zugehörige Veröffentlichung**

Oberbach A, Kirsch K, Lehmann S, Schlichting N, Fasshauer M, Zarse K, Stumvoll M, Ristow M, Blüher M, Kovacs P (2010): Serum vaspin concentrations are decreased after exercise induced oxidative stress. Obesity Facts, In press.

## **Anhang**

### **Kraftkreis (Kurzzeitbelastung):**

Das Kraftkreisprogramm entspricht der Kurzzeitbelastung der vorliegenden Untersuchung.

Die Belastungsintensität im Kraftprogramm betrug 80 Prozent der individuellen Maximalkraft, die vor Studienbeginn für die jeweilige Übung ermittelt wurde. Insgesamt absolvierten die Probanden 4 Serien des Kraftkreises, bestehend aus 10 Übungen, für die Muskelgruppen Beine, Rücken, Brust, Arme, Schulter und Bauch, bei einer Belastungsdauer von 45 Sekunden sowie einer Regenerationszeit von 30 Sekunden zwischen den Kraftkreisen. Die Messung des Serumvaspins erfolgte vor Belastung, direkt im Anschluss der Intervention sowie nach 24 und 48 Stunden Regenerationszeit.

### **Kraftausdauerprogramm 4 Wochen:**

Das Interventionsprogramm über 4 Wochen entspricht der Langzeitintervention der vorliegenden Untersuchung.

Pro Woche wurden dabei 4-5 Trainingseinheiten bei einer Belastungsintensität von 75-85% der maximalen Kraftwerte, dem sogenannten Muskelhypertrophietraining, absolviert. Eine Trainingseinheit beinhaltete 3-4 Übungen für eine große Muskelgruppe und 2-3 Übungen für eine kleine Muskelgruppe. Die Serienzahl jeder Übung lag zwischen 3-5 bei einer 8-12-maligen Wiederholungszahl pro Serie. Die Pausengestaltung ist mit 1-2 Minuten zwischen den einzelnen Übungen realisiert worden. Die Muskelgruppen wurden innerhalb einer Woche gesplittet, sodass jede Trainingseinheit eine andere Kombination einer großen und einer kleinen Muskelgruppe vorsah.

### **Erklärung über die eigenständige Abfassung der Arbeit**

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer, als der angegebenen Hilfsmittel, angefertigt habe. Ich versichere, dass Dritte von mir, weder unmittelbar noch mittelbar, geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, und dass die vorgelegte Arbeit weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt wurde. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht. Insbesondere wurden alle Personen genannt, die direkt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren.

---

Datum

---

Unterschrift

## **Danksagung**

Ich bedanke mich herzlich bei allen Patientinnen und Patienten, die bereit waren, am Untersuchungsmarathon teilzunehmen. Mein besonderer Dank gilt allen Koautoren, insbesondere Herrn Prof. Dr. med. Blüher, Herrn PD Dr. Kovacs sowie Herrn Dr. rer. biol. hum. Oberbach, MPH für die wertvolle Unterstützung und hilfreichen Anregungen.



## **Lebenslauf**

### **Angaben zur Person**

Name	Katharina Kirsch
Geburtsdatum/-ort	31.03.1982 in Leipzig
Staatsangehörigkeit	Bundesrepublik Deutschland
Familienstand	ledig
Postanschrift	Stentzlerstr. 97, 04158 Leipzig

### **Schulbildung**

09/1988 - 07/1992	Grundschule Wiederitzsch
09/1992 - 07/2000	Friedrich-Schiller-Gymnasium in Leipzig/Gohlis
	Abschluss: Allgemeine Hochschulreife

### **Berufliche Tätigkeiten**

09/2000 - 05/2001	Praktikum im Städtischen Klinikum St. Georg in der gastroentero-logischen Abteilung
-------------------	---

### **Universitäre Ausbildung**

01.10.01	Aufnahme des Studiums der Humanmedizin an der Universität Leipzig
04/2004	Ärztliche Vorprüfung
07/2007	Zulassung zum Praktischen Jahr

### **Praktisches Jahr**

08/2007-12/2007	Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und Intensivtherapie der Universität Leipzig
12/2007-02/2008	Klinik und Poliklinik für Kinderchirurgie der Universität Leipzig
02/2008-03/2008	Klinik für Unfall- und Wiederherstellungs- und Plastische Chirurgie der Universität Leipzig

03/2008-04/2008	Klinik für Visceral-, Transplantations-, Thorax- und Gefäßchirurgie der Universität Leipzig
04/2008-05/2008	Medizinische Klinik und Poliklinik II, Abteilung Hämatologie/Onkologie der Universität Leipzig
05/2008	Medizinische Klinik und Poliklinik III, Abteilung Nephrologie der Universität Leipzig
06/2008-07/2008	Klinik für Innere Medizin/Kardiologie, Herzzentrum

### **Publikationen**

Oberbach A, Lehmann S, Kirsch K, Krist J, Sonnabend M, Linke A, Tönjes A, Stumvoll M, Blüher M, Kovacs P. Long-term exercise training decreases interleukin-6 (IL-6) serum levels in subjects with impaired glucose tolerance: effect of the -174G/C variant in IL-6 gene. *Eur J Endocrinol.* 2008 Aug; 159(2):129-36.

Oberbach A., Kirsch K, Lehmann S, Fasshauer M, Klötting N, Stumvoll M, Ristow M, Blüher M, Kovacs P. Serum vaspin concentrations are decreased after exercise induced oxidative stress. *Obesity facts.* 2010

### **Studentische Nebentätigkeit**

10/2006-09/2008	Honorar-dozententätigkeit für Pharmareferenten und Altenpflegehelfer in den Fächern Anatomie, Innere Medizin, Pharmakologie, Mikro-biologie und Psychiatrie  (Universum Private Berufsbildungs-Akademie GmbH, Leipzig)
-----------------	--

### **Weiterbildungen**

07/2005	Teilnahme „Impfkurs für Studenten der Medizin in den klinischen Semestern" der LUA Sachsen
08/2010	Abdomen-Sonographie-Kurs Bad Dürkheim

### **Beruflicher Werdegang**

01.06.09	Approbation als Ärztin
seit 01.10.2009	Herzzentrum Leipzig, Klinik für Innere Medizin/Kardiologie

## **Verzeichnis der wissenschaftlichen Veröffentlichungen**

- 1: Oberbach A\*, Lehmann S\*, **Kirsch K**, Krist J, Sonnabend M, Linke A, Tönjes A, Stumvoll M, Blüher M, Kovacs P. (2008): Long-term exercise training decreases interleukin-6 (IL-6) serum levels in subjects with impaired glucose tolerance: effect of the -174G/C variant in IL-6 gene. Eur J Endocrinol. 159(2): 129-36. Epub 2008 May 9. PubMed PMID: 18469018.
- 2: Oberbach A, **Kirsch K**, Lehmann S, Schlichting N, Fasshauer M, Zarse K, Stumvoll M, Ristow M, Blüher M, Kovacs P. (2010): Serum vaspin concentrations are decreased after exercise induced oxidative stress. Obesity Facts, In press.

An den Dekan der Medizinischen Fakultät  
Universität Leipzig  
Professor Dr. Joachim Thiery  
Liebigstraße 27 b  
04103 Leipzig

Leipzig, 16.09.2010

**Antrag auf Durchführung eines Promotionsverfahrens**

Sehr geehrter Herr Prof. Dr. Thiery,

ich beantrage die Durchführung des Promotionsverfahrens zur Erlangung des Doktorgrades

**Dr. med.**

Privatanschrift: Katharina Kirsch  
Stentzlerstr. 97  
04158 Leipzig

Dienstanschrift: Herzzentrum Leipzig  
Klinik für Innere Medizin / Kardiologie  
Universität Leipzig  
Strümpelstraße 39  
04289 Leipzig

Thema der Dissertation: Die Serumvaspinkonzentration in Abhängigkeit von  
trainingsinduziertem oxidativen Stress

Einrichtung, an der die Arbeit angefertigt wurde:

Medizinische Klinik III  
Klinik und Poliklinik für Endokrinologie und Nephrologie  
Universität Leipzig  
Liebigstr. 20  
04103 Leipzig

Betreuer: Prof. Dr. med. Matthias Blüher  
PD Dr. rer. med. Peter Kovacs  
Dr. rer. biol. hum. Andreas Oberbach MPH

Freundliche Grüße,

Katharina Kirsch

**Medizinische Fakultät Universität Leipzig**

**Einreichungserklärung**

Die von Frau Katharina Kirsch

vorgelegte Dissertation wurde betreut von

Prof. Dr. med. Matthias Blüher

PD Dr. rer. med. Peter Kovacs

Dr. rer. biol. hum. Andreas Oberbach MPH

Die Einreichung der Dissertation wird befürwortet.

Leipzig, den

.....

.....

Betreuer

Leiter der Einrichtung

## Lebenslauf

### Angaben zur Person

Name	Katharina Kirsch
Geburtsdatum/-ort	31.03.1982 in Leipzig
Staatsangehörigkeit	Bundesrepublik Deutschland
Familienstand	ledig
Postanschrift	Stentzlerstr. 97, 04158 Leipzig

### Schulbildung

09/1988 - 07/1992	Grundschule Wiederitzsch
09/1992 - 07/2000	Friedrich-Schiller-Gymnasium in Leipzig/Gohlis
	Abschluss: Allgemeine Hochschulreife

### Berufliche Tätigkeiten

09/2000 - 05/2001	Praktikum im Städtischen Klinikum St. Georg in der gastroentero-logischen Abteilung
-------------------	---

### Universitäre Ausbildung

01.10.01	Aufnahme des Studiums der Humanmedizin an der Universität Leipzig
04/2004	Ärztliche Vorprüfung
07/2007	Zulassung zum Praktischen Jahr

### Praktisches Jahr

08/2007-12/2007	Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und Intensivtherapie der Universität Leipzig
12/2007-02/2008	Klinik und Poliklinik für Kinderchirurgie der Universität Leipzig
02/2008-03/2008	Klinik für Unfall- und Wiederherstellungs- und Plastische Chirurgie der Universität Leipzig
03/2008-04/2008	Klinik für Visceral-, Transplantations-, Thorax- und Gefäßchirurgie der Universität Leipzig

04/2008-05/2008	Medizinische Klinik und Poliklinik II, Abteilung Hämatologie/Onkologie der Universität Leipzig
05/2008	Medizinische Klinik und Poliklinik III, Abteilung Nephrologie der Universität Leipzig
06/2008-07/2008	Klinik für Innere Medizin/Kardiologie, Herzzentrum

### **Publikationen**

Oberbach A, Lehmann S, Kirsch K, Krist J, Sonnabend M, Linke A, Tönjes A, Stumvoll M, Blüher M, Kovacs P. Long-term exercise training decreases interleukin-6 (IL-6) serum levels in subjects with impaired glucose tolerance: effect of the - 174G/C variant in IL-6 gene. *Eur J Endocrinol*. 2008 Aug; 159(2):129-36.

Oberbach A., Kirsch K, Lehmann S, Fasshauer M, Klötting N, Stumvoll M, Ristow M, Blüher M, Kovacs P. Serum vaspin concentrations are decreased after exercise induced oxidative stress. *Obesity facts*. 2010

### **Studentische Nebentätigkeit**

10/2006-09/2008	Honorarstudententätigkeit für Pharmareferenten und Altenpflegehelfer in den Fächern Anatomie, Innere Medizin, Pharmakologie, Mikro- biologie und Psychiatrie  (Universum Private Berufsbildungs-Akademie GmbH, Leipzig)
-----------------	---

### **Weiterbildungen**

07/2005	Teilnahme „Impfkurs für Studenten der Medizin in den klinischen Semestern" der LUA Sachsen
08/2010	Abdomen-Sonographie-Kurs Bad Dürkheim

### **Beruflicher Werdegang**

01.06.09	Approbation als Ärztin
seit 01.10.2009	Herzzentrum Leipzig, Klinik für Innere Medizin/Kardiologie

Urkunde Hochschulabschlüsse



## **Verzeichnis der wissenschaftlichen Veröffentlichungen**

- 1: Oberbach A\*, Lehmann S\*, **Kirsch K**, Krist J, Sonnabend M, Linke A, Tönjes A, Stumvoll M, Blüher M, Kovacs P. (2008): Long-term exercise training decreases interleukin-6 (IL-6) serum levels in subjects with impaired glucose tolerance: effect of the -174G/C variant in IL-6 gene. Eur J Endocrinol. 159(2): 129-36. Epub 2008 May 9. PubMed PMID: 18469018.
- 2: Oberbach A, **Kirsch K**, Lehmann S, Schlichting N, Fasshauer M, Zarse K, Stumvoll M, Ristow M, Blüher M, Kovacs P. (2010): Serum vaspin concentrations are decreased after exercise induced oxidative stress. Obesity Facts, In press.

amtliches Führungszeugnis

Beleg über die entrichtete Promotionsgebühr

Vorschläge für die Bestellung von zwei Gutachtern für die Promotion zum Dr. med. von Katharina Kirsch:

**Prof. Dr. med. Gerhard Schuler**

Herrzentrum Leipzig  
Klinik für Innere Medizin / Kardiologie  
Universität Leipzig  
Strümpelstraße 39  
04289 Leipzig

**PD Dr. med. Mathias Fasshauer**

Medizinische Klinik III  
Klinik und Poliklinik für Endokrinologie und Nephrologie  
Universität Leipzig  
Liebigstraße 20  
04103 Leipzig

## **Bibliographische Beschreibung**

Katharina Kirsch, Assistenzärztin Innere Medizin/Kardiologie

### **Die Serumvaspinkonzentration in Abhängigkeit von trainingsinduziertem oxidativen Stress**

Universität Leipzig, Publikationsdissertation, September 2010

23 Seiten, 79 Literaturangaben, 5 Anlagen.

## **Referat**

Insbesondere dem viszeralen Fettgewebe, mit seiner Quelle für die Zytokinexpression, werden pathogene Eigenschaften in der Entwicklung des Typ 2 Diabetes mellitus zugesprochen. Diese Adipozytokine modulieren die Insulinsensitivität in verschiedenen Zielgeweben. Das Adipozytokin Vaspin wurde erstmalig 2005 beschrieben und wird vorrangig im viszeralen Fettgewebe exprimiert. Im Serum wurde es als Serin-Protease-Inhibitor identifiziert. Untersuchungen zeigen einen protektiven Einfluss von Vaspin auf den Glukosestoffwechsel und belegen einen möglichen Zusammenhang mit der Pathogenese des Typ 2 Diabetes mellitus. Kurzzeitige körperliche Aktivität vermindert die Serumvaspinkonzentration in Abhängigkeit der Belastungsintensität und des Fitnesslevels. Verschiedene Studien verweisen auf eine Assoziation des Typ 2 Diabetes mellitus mit einem erhöhten Radikalestoffwechsel, im Serum, im Fett- und im Muskelgewebe. Offen bleibt die Frage, ob die Erhöhung der Vaspinkonzentration auf einen verbesserten Glukosestoffwechsel zurückzuführen ist, oder unter dem Einfluss des Diabetes induzierten Radikalestoffwechsels steht. Ein gesteigerter Radikalestoffwechsel in der Muskulatur wird insbesondere unter intensiver körperlicher Belastung beobachtet und wurde als Modell zur Untersuchung des Zusammenhangs zwischen Vaspin und dem oxidativen Stress herangezogen. In einer randomisierten prospektiven Studie zeigen Probanden nach einem 4-wöchigen Trainingsprogramm mit Vitamin C- und E- Zusatz eine signifikante Reduktion des Radikalestoffwechsels im Serum und in der Skelettmuskulatur bei gleichzeitiger Erhöhung der Serumvaspinkonzentration. Hohe intraindividuelle Schwankungen sowie belastungsabhängige Änderungen des Stoffwechsels beeinflussen die Serumvaspinkonzentration nachhaltig. Um den Einfluss der Änderung der Insulinsensitivität oder des ROS genauer aufzudecken, sollten weitere Anstrengungen in der Identifikation der Reaktionspartner unternommen werden.

## **Erklärung über den wissenschaftlichen Beitrag der Publikation**

Oberbach A\*, Kirsch K\*, Lehmann S, Schlichting N, Fasshauer M, Zarse K, Stumvoll M, Ristow M, Blüher M, Kovacs P (2010): Serum vaspin concentrations are decreased after exercise induced oxidative stress. Obesity facts, In press.

\*A. Oberbach and K. Kirsch contributed equally to this work

Hiermit erkläre ich folgenden wissenschaftlichen Beitrag zur Publikation

- Planung, Organisation und Durchführung der Untersuchungen zu den einzelnen Messzeitpunkten (Fahrradergometrie, Kraftausdauerstest)
- Planung, Organisation und Durchführung der 4-wöchigen Belastungsuntersuchung
- Abnahme und Bearbeitung der Blutproben während der Belastungsuntersuchung
- Mitwirken an der Datenauswertung sowie grafischen Darstellung
- Erarbeitung der Hypothesen und wissenschaftlichen Fragestellungen
- Mitwirkung bei der statistischen Analyse
- Mitwirkung bei der Erarbeitung des Skripts

Dr. rer. biol. hum. Andreas Oberbach MPH

Dipl.-Spowi. Stefanie Lehmann MPH

Dipl.-Biol. Nadine Schlichting

PD Dr. med. Mathias Fasshauer

Prof. Dr. med. Matthias Blüher

PD Dr. rer. med. Peter Kovacs

.....	.....
Ort, Datum	Unterschrift der Koautoren